

skim w tych samych warunkach temperatury wydalenie leku z tkanek następuje po 8-krotnie dłuższym czasie u pstrąga tęczowego niż u sumika.

Po podaniu leku doustnie część jego może ulec rozkładowi lub jak np. oksytetracyklina, może łączyć się z niektórymi składnikami pokarmu w jelicie i staje się wtedy nieczynna. Podczas podawania leku w kąpielii absorpcja jego zależy od pH płynu kąpielowego. Pobieranie sulfamidu z płynu kąpielowego u pstrąga tęczowego jest znacznie intensywniejsze w pH 6 niż w pH 10. Pobieranie leków w kąpielii przez ryby zależy od zasolenia wody i od jej twardości.

Z powyższych przykładów wynika, że farmakokinetyka u ryb jest zależna od bardzo wielu czynników.

MICHAŁ STOSIK
Zielona Góra

Zmiany anatomopatologiczne oraz stan niektórych parametrów odporności nieswoistej u karpia pochodzących z obsady ryb chorych na erythrodermatitis

Summary

Anatomo-pathological changes and some data of non-specific immunity of carp derived from the fish stock with the signs of erythrodermatitis

The studies were carried out on the carp aged two years. The analysis of findings revealed a statistically significant changes in reference to: a) the number of leukocytes and neutrophils, b) the metabolic activity of neutrophils determined on the basis of the NBT test, c) phagocytosis of the cells of *Staphylococcus aureus* 209 P, d) the activity of myeloperoxidase of neutrophils. In addition, there was found in sick fish marked anatomo-pathological changes. These lesions and haematological and immunological changes were especially distinct in the carp with developed clinical changes.

Erythrodermatitis — to choroba wywoływana przez bakterie z grupy tzw. atypowych bakterii *Aeromonas salmonicida*. Jest to schorzenie o dużym znaczeniu gospodarczym, przebiegające najczęściej z niewielkimi, lecz długotrwałymi śnięciami. Częściej jednak poważne straty wiążą się z sytuacją, kiedy choroba nie prowadzi do śnięć ryb, lecz powoduje u nich brak apetytu, zahamowanie wzrostu oraz wychudzenie.

Podstawą rozpoznania *erythrodermatitis* jest stwierdzenie wrzodów posocznicowych w powłokach zewnętrznych ryb oraz izolacja bakterii wywołujących obraz kliniczny tej choroby w próbie biologicznej (2). Wcześniejsze rozpoznanie tej infekcji u karpia umożliwiającą dotąd mało powszechne metody, nie w pełni specyficzne, wykazujące zmiany w parametrach immunologicznych i hematologicznych u tego gatunku ryb (13, 14). Dodać należy, że dotychczas nie zyskały sobie również należnego zainteresowania zmiany anatomopatologiczne występujące u ryb chorych na *erythrodermatitis*. Uważa się bowiem (2, 3, 5, 7, 9, 11), że w typowej formie występują one jedynie u karpia z chroniczną (długo trwającą) postacią tej choroby.

Pomimo, że konferencja OIE w Paryżu dotyczyła jednego tematu — chemioterapii ryb, przedstawiony przegląd problematyki prac tam prezentowanych świadczy o dużej jej różnorodności. Dawniej konferencje na temat terapii ryb zawierały głównie dane o skuteczności leków, ich dawkowaniu i toksyczności dla ryb. Dzisiejszy stan wiedzy w tej dziedzinie jest znacznie szerszy i dotyczy nie tylko samych leków i ich działania, ale bardzo precyzyjnych danych nawet z dziedziny genetyki molekularnej i immunologii. Poza tym zwraca uwagę problem wpływu chemioterapeutyków na środowisko wodne, który staje się obecnie przedmiotem żywego zainteresowania ichtiopatologów.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Prost, ul. I Armii WP 10, 20-078 Lublin

Założeniem badań była ocena zmian anatomopatologicznych oraz stanu wybranych parametrów odporności nieswoistej u karpia chorych na *erythrodermatitis* w kolejnych stadiach rozwoju tej choroby.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u karpia dwuletnich, w okresie od maja do lipca. Przebadano 150 ryb o masie ciała 200—350 g. Karpie tworzące grupę I (kontrolną) były w dobrym stanie kondycyjnym oraz zdrowym i pochodziły ze stawu wolnego od *erythrodermatitis*. Pozostałe ryby odłowiono ze stawu, w którym choroba występowała stacjonarnie i podzielono, uwzględniając kolejne stadia rozwoju choroby, na cztery grupy (II—V):

- grupa II — ryby nie wykazujące klinicznych objawów choroby (okres inkubacji)
- grupa III — ryby, u których stwierdzono na skórze przekrwienia i wybroczyny (ostry proces chorobowy)
- grupa IV — ryby z licznymi i rozległymi wrzodami posocznicowymi (stadium przejściowe między ostrym a chronicznym procesem chorobowym)
- grupa V — ryby, u których obserwowano proces gojenia i bliznowacenia ran (chroniczny okres choroby).

Rozpoznanie *erythrodermatitis* oparto na obrazie zmian klinicznych oraz wynikach badań bakteriologicznych wykonanych według Antychowicza (1) oraz Antychowicza i Rogulskiej (4). Wykonano także próbę biologiczną metodą skażeniową i wcierania materiału zakaźnego w skórę zdrowych ryb.

Badania hematologiczne krwi dotyczyły określenia bezwzględnej liczby leukocytów (WBC) i neutrofilów (PMN). Aktywność metaboliczną komórek PMN, wyrażoną indeksem NBT i ilością formazanu u 1 ml krwi, oznaczano za pomocą testu redukcji błękitu nitrotetrazolowego (NBT) według Ramana i Polanda (8) w modyfikacji Siwickiego i wsp. (12), zdolność pochłaniania bakterii wzorcowych (*Staphylococcus aureus* 209P) przez neutrofile, wyrażoną indeksem fagocytarnym, wykonano metodą Ładosza (6), zaś aktywność mieloperoksydazy (MPO) neutrofilowej, wyrażoną wskaźnikiem aktywności MPO (WAMPO) (10), określono metodą Grahama opisaną przez Zawistowskiego (15).

Wyniki badań anatomopatologicznych przedstawiono w tab. 1, zaś immunologicznych i hematologicznych — w tab. 2. Te ostatnie poddano analizie statystycznej według testu t-Studenta dla alfa = 0,05.

Tab. 1. Zmiany anatomopatologiczne u karpki zdrowych (grupa I) i chorych na *erythrodermatitis* (grupa II—V)

Grupa badanych ryb	Skóra — przekrwienia, wybroczyny	Wrzody w stanie		Wątrobotrzustka zazieleniona, gliniasta	Śledziona — powiększenie	Nerki wydalnicze — obrzęk	Przewód pokarmowy — przekrwienia błony śluzowej
		zapalnym	zabliźnienia się				
I	—	—	—	—	—	—	—
II	—	—	—	80,6	25,8	16,1	45,1
III	100,0	—	—	75,7	45,4	15,1	33,3
IV	—	100,0	—	75,0	39,2	25,0	3,5
V	—	—	100,0	0,5	—	—	—

Objaśnienie: liczby oznaczają % ryb, u których wystąpiły zmiany anatomopatologiczne.

Tab. 2. Wyniki badań hematologicznych i immunologicznych u karpki zdrowych (grupa I) i chorych na *erythrodermatitis* (grupa II—V)

Grupa badanych ryb	Liczba badanych ryb	WBC 10 ⁹ /l	PMN 10 ⁹ /l	Formazan mg/l ml krwi	Indeks NBT	Indeks fagocytarny	WAMPO
I	38	84,62 ± 8,23	9,64 ± 2,24	1,54 ± 0,17	0,16 ± 0,05	4,87 ± 1,36	0,92 ± 0,27
II	31	89,12 ± 27,32	16,35 * ± 4,65	1,18 * ± 0,23	0,07 * ± 0,02	24,32 * ± 6,36	2,10 * ± 0,26
III	33	115,76 * ± 29,67	27,12 * ± 9,14	1,29 * ± 0,30	0,04 * ± 0,01	27,56 * ± 6,89	2,36 * ± 0,34
IV	28	47,68 * ± 11,24	16,73 * ± 5,03	1,12 * ± 0,33	0,06 * ± 0,02	62,68 * ± 17,31	2,83 * ± 0,29
V	20	17,92 * ± 6,11	3,12 * ± 1,09	2,16 * ± 0,42	0,69 * ± 0,23	39,74 * ± 11,43	1,29 * ± 0,33

Objaśnienie: * — różnice statystycznie istotne między grupą I a grupami II—V przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i omówienie

Badania anatomopatologiczne wykazały występowanie wyraźnych zmian w narządach wewnętrznych karpki chorych na *erythrodermatitis*. U ryb grupy II, to jest w okresie inkubacji, występuje zazielenienie lub gliniaste zabarwienie wątrobotrzustki, powiększenie śledziona, obrzęk nerek i przekrwienie błony śluzowej przewodu pokarmowego. Zmiany te, co jest godne podkreślenia, występują w czasie, kiedy w skórze nie stwierdza się żadnych odchyżeń od prawidłowego jej wyglądu, a stan infekcji u ryb potwierdzają jedynie zmienione parametry immunologiczne i hematologiczne (tab. 2). Wartości tych oznaczeń, zgodne z wynikami wcześniejszych badań (13, 14), wykazały wzrost liczby neutrofilów i ich zdolności do pochłaniania. Słabsza niż u ryb zdrowych była w tej grupie aktywność metaboliczna komórek PMN, co przypuszczalnie wiąże się z uwalnianiem do krwiobiegu neutrofilów w dużej części niezdolnych do wewnątrzkomórkowego zabijania czynników patogenych. Potwierdzeniem tej infekcji u badanych ryb był także wysoki wskaźnik aktywności MPO (tab. 2).

U ryb grupy III, u których stwierdzono przekrwienia i wybroczyny, obraz zmian anatomopatologicznych różnił się występowaniem powiększonej śledziona u większej liczby ryb niż w grupach II i IV. Zmiany hematologiczne w tej grupie ryb były silniej zaznaczone niż u ryb grupy II i wyrażały się istotnym wzrostem liczby neutrofilów i leukocytów. Wskaźniki immunologiczne natomiast wykazują podobne tendencje jak u ryb grupy II, to jest znajdujących się w stadium inkubacji choroby.

Karpki grupy IV, z wrzodami posocznicowymi w stanie zapalnym, charakteryzowały się w stosunku do ryb z grupy II i III, zdecydowanie lepszym stanem błony śluzowej przewodu pokarmowego, a przekrwienia i wybroczyny występowały już tylko u 3,5% badanych ryb. Wartości WBC i PMN wykazywały wyraźny spadek, z tym, że w przypadku ilości WBC nawet poniżej wartości występujących u ryb klinicznie zdrowych (grupa I)

(tab. 2). Zdolność komórek PMN do redukcji NBT u ryb grupy IV była słabsza niż u ryb zdrowych (grupa I), choć wykazywała pewne tendencje wzrostowe. Indeks fagocytarny oraz wskaźnik aktywności MPO u ryb grupy IV, w porównaniu z wartościami u ryb z grupy I, II, III i V, były najwyższe.

U ryb grupy V stwierdzany całkowity zanik zmian anatomopatologicznych, występujących u karpki grup II, III i IV, był wyraźny i charakteryzował się występowaniem wrzodów posocznicowych w stadium zabliźnienia. Obserwowane u tej grupy karpki zmiany w wynikach badań hematologicznych i immunologicznych odzwierciedlają najprawdopodobniej prawidłową reakcję organizmu i mobilizację immunologiczną skierowaną przeciw infekcji bakteryjnej (12, 13, 14).

Reasumując przedstawione wyniki należy stwierdzić, że u karpki będących w okresie inkubacji choroby (grupa II) wyraźne zmiany występowały w błonie śluzowej przewodu pokarmowego oraz w wątrobotrzustce, a także — choć mniej nasilone — w śledzionie i nerkach. Ostry proces *erythrodermatitis* (grupa III) wyrażał się szczególnie mocno powiększeniem śledziona i równoczesnym wzrostem liczby leukocytów w krwiobiegu. Pozostałe stadia rozwoju *erythrodermatitis* wyróżniały się tendencją do ustępowania zmian anatomopatologicznych (grupa IV) lub ich zupełnego zaniku (grupa V), co także znalazło odbicie w obrazie zmian hematologicznych i immunologicznych. Za najbardziej charakterystyczne, ściśle związane z infekcją, można uznać zmiany występujące w błonie śluzowej przewodu pokarmowego oraz w śledzionie. Pozostałe natomiast są raczej konsekwencją pośredniego wpływu zakażenia na organizm ryby i jego funkcje fizjologiczne. Położenie zmian anatomopatologicznych u karpki objętych *erythrodermatitis* (grupa II—V), zwłaszcza w obrębie przewodu pokarmowego oraz obserwowany odwrotnie proporcjonalny stosunek nasilenia zmian chorobowych w przewodzie pokarmowym i w skórze ryb (tab. 1) wydają się bardzo interesujące. Obserwacje te, podobnie jak stwierdzane duże zmiany ilościowe w leukocytach krwi obwodowej

oraz aktywności komórek PMN, manifestującej się przede wszystkim wzrostem zdolności pochłaniania i wewnątrzkomórkowego zabijania czynników patogennych, skłaniają do dalszych badań nad diagnostyką tej stosunkowo powszechnie występującej choroby u karpi.

Piśmiennictwo

1. Antychowicz J.: Pol. Arch. Wet. 11, 659, 1969.
2. Antychowicz J.: Posocznica karpiowatych, Instytut Wet., Puławy 1979.
3. Antychowicz J., Nogajewski R.: Choroby karpi i pstrągów, Wydawnictwo ART, Olsztyn 1985.
4. Antychowicz J., Rogulska A.: Medycyna Wet. 39, 15, 1983.
5. Bootsma R., Fijan N., Blommaert J.: Vet. Arch. 47, 291, 1977.
6. Ładosz J.: Arch. Immunol. Ther. 16, 573, 1973.
7. Piżybylska-Wojtylszyn M., Łozińska-Gabska M.: Medycyna Wet. 46, 348, 1990.
8. Raman U., Poland R. L.: Pediatr. Res. 9, 334, 1975.
9. Robert R. J.: Fish pathology, Bailliere Tindall, London 1978.
10. Sanokowska E., Chomiak-Stachura E., Turowski G.: Diagn. Lab. 22, 49, 1986.
11. Schäperclaus W.: Fischkrankheiten, Akademie-Verlag, Berlin 1979.
12. Stwiński A., Studnicka M., Ryka B.: Bamidgh 37, 123, 1985.
13. Stosik M.: Badania nad dynamiką procesu fagocytozy u karpi podczas naturalnej infekcji carp erythrodermatitis (CE), Praca dokt., ART Olsztyn 1987.
14. Stosik M.: Immunol. Pol. 1990 (w druku).
15. Zawistowski S.: Technika histologiczna, podstawy histologii oraz histologia. PZW, Warszawa 1975.

Adres autora: dr Michał Stosik, Woj. Lab. Wet., ul. Olbrychta 1, 65-356 Zielona Góra

ZDZISŁAW GLIŃSKI, JAN JAROSZ *

Sterowanie układem obronnym owadów

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
* Zakład Patologii Owadów Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Postęp w immunologii porównawczej, a także w immunologii komórkowej i w immunogenetyce, zmienił wiele dotychczas powszechnie obowiązujących poglądów. Obserwacje i badania prowadzone w ostatnim dwudziestoleciu, zwłaszcza nad syntezą i rolą lizozymu (23) i ciekropin (3) w odporności przeciwważnej potwierdziły, że u owadów podobnie jak u kręgowców, integrację i homeostazę organizmu zapewnia nie tylko układ nerwowy i układ wydzielania wewnętrznego, ale także układ odpornościowy. Działanie tych trzech układów jest ściśle powiązane ze sobą, chociaż układ nerwowy i endokryalny pełnią rolę dominującą w utrzymaniu homeostazy. Układ obronny owada warunkuje całość zjawisk związanych z odpornością naturalną i nabytą, łącznie z kontrolowaniem nowotworzenia. Jedną z najważniejszych właściwości tego układu jest rozpoznawanie struktur własnych (self) od struktur obcych (non self) oraz niszczenie, sekwestracja lub eliminacja struktur uznanych za obce dla organizmu owada (20, 21). Zdolność do uczenia się i pamięć immunologiczna, które obok rozpoznawania są podstawowymi cechami układu immunologicznego kręgowców, u owadów mają znaczenie marginalne. Występują one tylko u niektórych gatunków owadów, np. u *Periplaneta americana* w odporności antytoksycznej (17).

Osiągnięcia immunologii eksperymentalnej i klinicznej umożliwiły sterowanie układem immunologicznym człowieka i zwierząt wyższych, zaś szybki rozwój immunologii bezkręgowców stworzył racjonalne podstawy do kierowania niektórymi reakcjami obronnymi u owadów. Problem sterowania odczynami obronnymi owadów należy rozpatrywać w kilku płaszczyznach. Po pierwsze jako zjawisko fizjologiczne zachodzące w każdym ustroju żywym, korzystne dla wzrostu i rozwoju owada. Po drugie, jako zjawisko patologiczne, które w określonych sytuacjach prowadzi do zakażenia i rozwoju choroby. Po trzecie, jako efektywne narzędzie pomocne w opracowaniu nowych strategii biologicznego zwalczania owadów szkodliwych. W następstwie zaburzeń w liniach obrony przeciwważnej owada rozwijają się zakażenia wywołane przez drobnoustroje stanowiące aktywny składnik mikrobiologicznych insektycydów (25). Ponadto owady stają się bardziej podatne na zakażenia wywołane przez mikroflorę autochtoniczną, a także za-

siedlającą ubikwitalnie środowisko bytowania owada. W każdym z tych przypadków ostatecznym efektem jest wystąpienie śmiertelnych posocznic. Ponadto ze względu na brak układu immunologicznego typowego dla kręgowców i immunoglobulin, owady stanowią wygodny i coraz częściej wykorzystywany model w badaniach nad stymulacją i supresją odczynów obronnych, np. w przebiegu nowotworzenia.

Sposoby oddziaływania na układ obronny owada

Pojęcie sterowania układem obronnym może być rozumiane wielorako. W jednym przypadku dotyczy ono działań wpływających na nasilenie odporności. Może ono też ograniczać się tylko do pobudzenia lub hamowania odpowiedzi immunologicznej. Przy analizie prób sterowania układem obronnym owadów przyjęto znaczenie szersze tego pojęcia, a więc działanie, którego celem jest zwiększenie odporności (immunostymulacja), działania dążące do ograniczenia nasilenia odporności przeciwważnej (immunosupresja) oraz działania mające na celu osłabienie lub przełamanie anatomiczno-fizjologicznych barier ochronnych owada. Wydaje się, że przy obecnym stanie wiedzy nie jest konieczne wyodrębnianie u owadów immunostymulacji od immunomodulacji jako dwóch odrębnych zjawisk. U człowieka immunomodulacja oznacza depresyjny lub stymulujący wpływ na odpowiedź immunologiczną, przy czym rodzaj tej reakcji jest uzależniony ściśle od stanu immunologicznego organizmu. Immunostymulacja natomiast obejmuje działania pobudzające u osobników z upośledzonym układem odpornościowym. Immunostymulacja wzmagają w konsekwencji odczynu obrony komórkowej i humoralnej owada, podczas gdy immunosupresory blokują te odczyny osłabiają lub nawet wyłączają zupełnie mechanizmy obronne organizmu. Należy przy tym zdawać sobie sprawę, że immunoregulatory nawet u człowieka nie we wszystkich przypadkach selektywnie pobudzają lub obniżają aktywność określonych składowych odporności organizmu. Z reguły ich działanie jest wielorakie, zaś efektem końcowym jest obniżenie lub podwyższenie odporności.

W celu uzyskania efektów immunoregulacyjnych, głównie w badaniach podstawowych nad poznaniem