

ponadto lekka aż do średniej anemii hipoplastyczna. Możliwość stwierdzenia chronicznego zatrucia ołowiem polega na kilkakrotnym badaniu aktywności dehydratazy delta-aminolewulinianowej we krwi. W przypadku pozytywnym

— aktywność ta jest wyraźnie obniżona.

Zatrucie ołowiem można skutecznie wyleczyć przez dożylnie podawanie *calcium titriplex* w dawkach 80 do 100 mg/kg masy ciała, jeżeli przyjęta ilość trucizny nie jest zbyt wielka.

JANUSZ A. MADEJ*, CZESŁAW KASZUBKIEWICZ*, STANISŁAW KLIMENTOWSKI,
MICHAŁ MAZURKIEWICZ, JAN KURYSZKO, KRZYSZTOF A. SOBIECH

Badania nad wpływem mieszanki mineralnej Wisol-BM*) na rozwój białaczki limfatycznej u myszy

* Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław
Katedra Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
Pl. Grunwaldzki 45, 50-335 Wrocław

Indukcji procesu nowotworowego może sprzyjać wiele czynników, np. wirusy leukemogene, czynniki natury fizycznej oraz związki chemiczne. Procesowi nowotworowemu mogą też sprzyjać niedobory niektórych makro- i mikroelementów. Długotrwały wpływ wymienionych czynników na organizm może być przyczyną subklinicznych zmian w organizmie ludzi i zwierząt, ujawniających się niekiedy po wielu latach, jak np. białaczki. Stąd też białaczki zalicza się do chorób środowiskowych wywołanych destrukcyjną działalnością człowieka i określanych umownym terminem MMD — *man made diseases* (1).

Procesowi indukcji nowotworowej mają przeciwdziałać niektóre naturalne i syntetyczne antyoksydanty, określane mianem akceptorów czyli zmiataczy (*scavengers*) wolnych rodników (1, 3, 6, 15). Do silnych antyoksydantów należą oprócz witaminy E i C także niektóre metale, jak: Se, Zn, Co, Mg i Ca (1). Część z wymienionych makro- i mikroelementów zawartych jest w mieszance mineralnej Wisol-BM.

Celem badań własnych było określenie wpływu mieszanki mineralnej Wisol-BM na rozwój naturalnej białaczki limfatycznej u myszy szczepu wysokobiałaczkowego NZB.

Materiał i metody

Do badań użyto 200 myszy szczepu wysokobiałaczkowego NZB (*New Zealand Black*), 3 mies., samców pochodzących z Ośrodka Hodowli Zwierząt Wsobnych przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. U myszy tego szczepu najprawdopodobniej już we wczesnym okresie życia zachodzi aktywacja endogennego wirusa białaczkotwórczego. Myszy podzielono na dwie grupy liczące po 100 szt., z których pierwsza otrzymywała w paszy mieszankę mineralną Wisol-BM przez okres 15 miesięcy w ilości 2 g/szt./dzień, a grupa druga służyła jako kontrolna. Dawkę preparatu ustalono w badaniach wstępnych podając go myszom *ad libitum*.

Myszy z obu grup zabijano przez wykrwawienie w dniu „0” (3 mies. życia), oraz po 100 i 200 dniach trwania doświadczenia i wykonywano następujące ba-

daniami: kontrolę przyrostów masy ciała i masy narządów wewnętrznych (śledziona, wątroba), badania anatomiczno-patologiczne i histopatologiczne, badania histoenzymatyczne narządów wewnętrznych, badania morfologiczne krwi obwodowej, badania enzymatyczne osocza krwi i homogenatów z wątroby, badania mikroskopowo-elektronowe narządów wewnętrznych oraz chemiluminescencyjne (Chl) surowicy krwi oraz wyciągów tkankowych z wątroby i śledziny. Ponadto określono stosunek masy śledziny i wątroby do ogólnej m.c. myszy oraz obliczono współczynnik efektywności terapeutycznej wyrażony wzorem (9): $\frac{L}{K} \times 100\%$,

gdzie: L — średni czas przeżycia myszy otrzymujących Wisol, K — średni czas przeżycia myszy kontrolnych (bez Wisolu).

Do badań histopatologicznych i histoenzymatycznych pobierano wycinki z wątroby, śledziny, grasicy oraz węzłów chłonnych pachowych i pachwinowych. Preparaty barwiono H+E oraz metodą Gomoriego. Wycinki narządów przeznaczonych do badań histoenzymatycznych utrwalano w płynie Backera przez 18 godz. w temp. 277 K i krojono w kfiostacie w temp. -293 K na skrawki grubości 5 mikronów. Fosfatazę kwaśną (FK — EC.3.1.3.2) wykrywano metodą Gomoriego (5) w niepublikowanej modyfikacji Vorbdrotda, beta-glukuronidazę (B-GU — EC.3.2.1.31) metodą Hayashi i wsp. (7), lizozym (muramidazę) — Li — FC.3.2.1.17 pośrednio przy pomocy FK — metodą Kotza i wsp. (10) oraz dwuaminobenzydynę (DAB — EC.3.3.1.6) metodą Novikoffa i Godfischera (13). Wycinki tkanek na FK i B-GU inkubowano w temp. 310 K przez 45 minut, a na DAB przez 30 minut. Preparaty kontrolne (tzw. kontrola ujemna) inkubowano bez użycia substratu.

Badania hematologiczne: oznaczano poziom hemoglobiny (Hb), wskaźnik hematokrytowy (Ht) obraz morfologiczny krwi oraz identyfikację limfocytów T i B metodą Muellera i wsp. (12).

W badaniach enzymatycznych osocza i homogenatów wątroby oznaczano: aktywność gamma-glutamylotransferazy (GGT — EC.2.3.1.1) i acylazy aktywowanej kobaltem (AA-Co) za pomocą zestawów Biomed (Kraków), aktywność leucylaminopeptydazy (LAP-EC. 3.4.1.1 i alanyloaminopeptydazy (AAP — EC.3.4.1.2) oznaczano używając odpowiednio jako substratów: L-leucylo-beta-naftyloamid (Sigma Co.) i L-alanylo-beta-naftyloamid (Koch Light Lab.) wg metody opisaną przez Wiczorka i Sobiecha (14). Aktywność ww. enzymów wyrażono w milijednostkach (mjed.), jako ilość nanomoli alfa lub beta-naftyloaminy, uwolnionych w reakcji przez 1 cm³ osocza w ciągu 1 minuty, lub w mjed/mg białka. Białko w homogenatach wątroby oznaczano metodą Bradforda (4).

Do badań mikroskopowo-elektronowych pobierano

** Producent — Kopalnia Soli „Wieliczka”; 1 kg Wisolu-BM zawiera: 200–220 g Na, 70–100 g Ca, 25–40 g Mg, 35–50 g P, 600–1400 mg Zn, 700–1300 mg Mn, 3300–4500 mg Fe, 1000–1800 mg K, 200–1000 mg Cu oraz inne mikroelementy z dodatkiem ziół.

wycinki z wątroby i śledziony, utrwalano je w 2,5% roztworze aldehydu glutarowego na 0,1 M buforze fosforanowym o pH=7,2—7,4 z dodatkiem 7,5% sacharozy przez 3 godz. Następnie materiał utrwalano dodatkowo w 1% OsO₄ na ww. buforze, płukano, odwadniano i zatapiano w Eponie 812. Materiał analizowano w mikroskopie elektronowym transmisyjnym Philips BM-301.

Badaniem Chl określano poziom wolnych rodników (WR) poprzez rejestrację bardzo słabych świecён fotonowych w 20% wyciągach tkankowych z wątroby i śledziony, a także w surowicy krwi wg metody Marzuczaka i wsp. (11).

Ponadto 25 myszy z obu badanych grup pozostawiono „na przeżycie”. Po śmierci zwierząt oznaczano masę ciała, masę narządów (wątroba, śledziona) oraz obliczano stosunek procentowy masy każdego z tych narządów do masy ciała, a także wykonywano rutynowe badania histopatologiczne narządów.

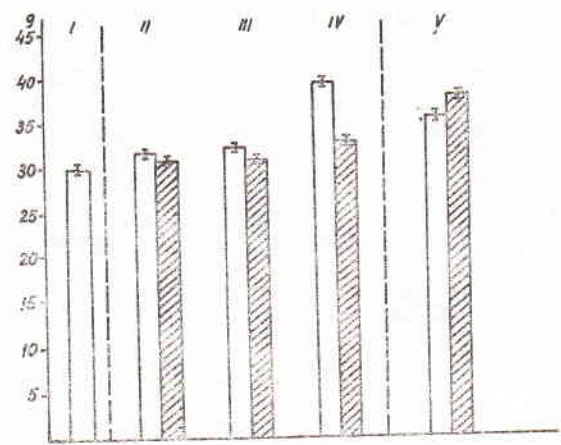
Wyniki i omówienie

Podawanie preparatu Wisol myszom wysoko-białaczkowego szczepu NZB prowadziło do mniejszego wzrostu ich masy ciała (ryc. 1) i narządów, tj. wątroby i śledziony (ryc. 2), a także mniejszego procentowego stosunku obu tych mas do siebie (ryc. 3), w porównaniu z myszami kontrolnymi, u których dochodziło do znacznie szybszego wzrostu masy narządów mięsowych na tle rozwoju białaczki limfatycznej.

Współczynnik efektywności „terapeutycznej” Wisolu był wyższy od 132,6% ($\frac{447 \text{ dni}}{337 \text{ dni}} \times 100\%$),

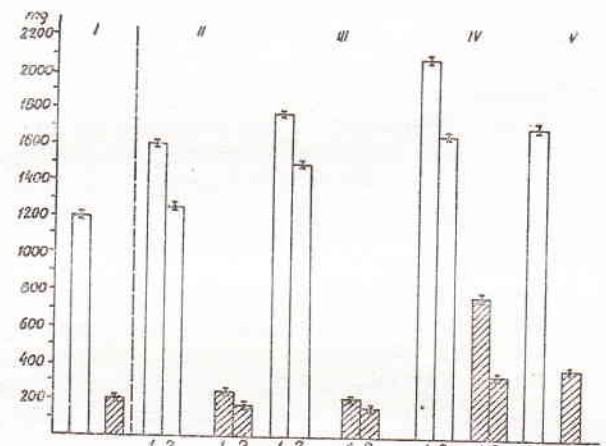
a więc przekraczał wymagane minimum, które wynosi 125% (9). Wskazuje to na znaczną aktywność przeciwnowotworową Wisolu-BM i kwalifikuje go do dalszych badań.

W obrazie sekcyjnym w 100 dniu doświadczenia obserwowano u 6 na 25 badanych myszy kontrolnych powiększenie węzłów chłonnych pachwowych i pachwinowych oraz śledziony. Narządy były barwy białawej lub białoszarej, na przekroju jednolite, niekiedy z obecnością drobnych ognisk martwicy i mikrowylewów. Natomiast w obrazie mikroskopowym obserwowano rozpoczynającą się kolonizację węzłów chłonnych oraz śledziony przez komórki limfoidalne. Nie spotykano natomiast zmian nowotworowych u myszy, którym *per os* podawano ten preparat. W wątrobie i grasicy, u obu grup zwierząt, nie obserwowano zmian białaczkowych. Komórki limfoidalne posiadały pęcherzykowate, okrągłe lub owalne jądro, z licznymi dobrze barwiącymi się jąderkami, otoczone szerokim, bazofilnym rąbkiem cytoplazmy. W obrębie jądra komórkowego spotykano nieliczne atypowe figury mitotyczne. Oprócz komórek limfoidalnych występowały nieliczne limfoblasty i słabo zróżnicowane komórki siateczki. Włókna retikulino-wy były bardzo wątłe. Po 200 dniach trwania doświadczenia nacieki komórek limfoidalnych obserwowano już u obu grup myszy. W grupie kontrolnej nacieki komórek białaczkowych występowały u wszystkich zwierząt. Natomiast w grupie zwierząt otrzymujących preparat nacieki białaczkowe



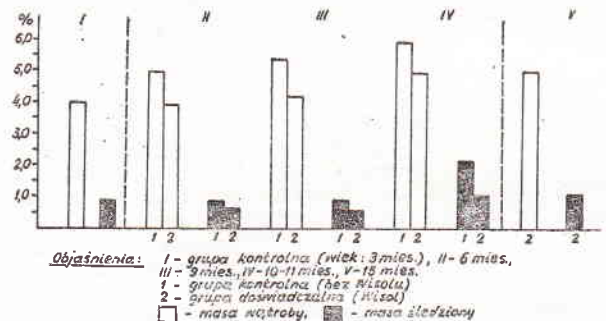
Objaśnienia: I - grupa kontrolna (wiek: 3 mies.), II - 6 mies., III - 9 mies., IV - 10-11 mies., V - 15 mies.
 □ - grupa kontrolna (bez Wisolu)
 ▨ - grupa doświadczalna (Wisol)

Ryc. 1. Masa ciała myszy w g



Objaśnienia: I - grupa kontrolna (wiek: 3 mies.), II - 6 mies., III - 9 mies., IV - 10-11 mies., V - 15 mies.
 1 - grupa kontrolna (bez Wisolu), 2 - grupa doświadczalna (Wisol),
 □ - masa wątroby, ▨ - masa śledziony

Ryc. 2. Masa narządów myszy w mg



Ryc. 3. Masa narządów w stosunku do masy ciała myszy w %

były zdecydowanie słabsze i wykazano je tylko u 6 myszy na 25 badanych. Nacieki białaczkowe stwierdzano w węzłach chłonnych i śledzionie z jednoczesnym namnożeniem się megakariocytów, natomiast u zwierząt kontrolnych ponadto w wątrobie.

Tab. 1. Badania histoenzymatyczne narządów myszy kontrolnych i doświadczalnych (Wisol)

Czas trwania doświadczenia	FK		B-GU		Li		DAB			
	K	D	K	D	K	D	pH=7,4		pH=9,2	
							K	D	K	D
Węzeł chłonny (limfocyty)										
0	++		++		++		+		+	
100 dni	+++	++	+	++	+++	++	+++	++	+++	++
200 dni	±	++	±	+	±	++	+++	+++	+	++
Śledziona (limfocyty)										
0	++++		++++		++		+		+	
100 dni	++++	+++	++++	+++	+++	++	+++	+++	+	+
200 dni	±	+	-	+	±	+	+	++	+	++
Grasica (tymocyty)										
0	++		+		++		+		+	
100 dni	+++	++	++	++	+++	++	+++	+	++	+
200 dni	++ ±	++	+	++	±	++	+	++	-	+
Wątroba (hepatocyty)										
0	++++		++++		++++		++++		++++	
100 dni	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	++
200 dni	++	+++	++	+++	++	+++	+	+++	+	++

Objaśnienia: FK — fosfataza kwaśna, B-GU — beta glukozydaza, Li — lizozym, DAB — dwuaminobenzzydina, K — grupa kontrolna (bez Wisolu), D — grupa doświadczalna (Wi sol), — — brak odczynu, ± — odczyn wątpliwy, + — odczyn dodatni, ++ — odczyn wzmożony, +++ — odczyn silnie dodatni, ++++ — odczyn bardzo silnie dodatni.

Badania histoenzymatyczne: w 100 dniu doświadczenia obserwowano wyraźny spadek aktywności wszystkich badanych enzymów lizosomalnych, tj. FK, B-GU i Li, a także DAB (enzymu peroksyosomów) w limfocytach, tymocytach i hepatocytach myszy z grupy kontrolnej (nie otrzymujących Wisolu) — tab. 1. Dależy spadek aktywności enzymów obserwowano w 200 dniu eksperymentu.

Badania hematologiczne: u myszy nie otrzymujących Wisolu obserwowano, w miarę rozwoju procesu białaczkowego, wyraźną eozynofilię oraz wzrost ilości limfocytów T; natomiast u myszy otrzymujących ten preparat notowano jedynie silną monocytopenię (tab. 2).

Nie stwierdzono istotnych różnic w aktyw-

ności enzymów: AA-Co, LAP, AAP pomiędzy grupą kontrolną a doświadczalną. Natomiast wykazano istotny wzrost ($P < 0,01$) aktywności GGT w wątrobie u zwierząt kontrolnych (grupa kontrolna — $0,16 \pm 0,03$, a grupa otrzymująca Wisol — $0,10 \pm 0,03$ m jed./mg białka).

Badania ultrastrukturalne: wątroba — hepatocyty myszy w dniu „0” nie wykazywały zmian ultrastrukturalnych, w porównaniu z prawidłowymi komórkami wątrobowymi. W 100 dniu doświadczenia hepatocyty myszy nie otrzymujących Wisolu charakteryzowały się zmniejszeniem ilości ziaren glikogenu w cytoplazmie podstawowej, ponadto pojawiały się wakuole segregacyjne i autofagiczne w obszarach przylegających do kanalika żółciowego oraz nastę-

Tab. 2. Wyniki badań hematologicznych u myszy doświadczalnych (Wisol) i kontrolnych

Wskaźniki	Dzień „0”	100 dni		200 dni	
		K	D	K	D
Hemoglobina	$7,92 \pm 0,82$	$9,48 \pm 1,11$	$8,79 \pm 0,7$	$9,58 \pm 0,7$	$10,35 \pm 1,46$
Hematokryt	$0,46 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,04$	$0,49 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,0$	$0,47 \pm 0,02$
Erytrocyty $10^{12}/l$	$4,43 \pm 0,92$	$8,65 \pm 0,69$	$8,12 \pm 0,94$	$9,14 \pm 0,37$	$9,46 \pm 0,81$
Leukocyty $10^9/l$	$5,02 \pm 1,1$	$4,6 \pm 0,9$	$4,26 \pm 0,41$	$5,26 \pm 1,02$	$5,86 \pm 1,55$
Palczki	brak	brak	brak	brak	brak
Segmenty	$0,26 \pm 0,12$	$0,37 \pm 0,12$	$0,26 \pm 0,0$	$0,36 \pm 0,14$	$0,24 \pm 0,0$
Eozynofile	0,007 *	0,033 *	0,036 *	0,05 *	0,016 *
Bazofile	brak	brak	brak	brak	brak
Monocyty	$0,08 - 0,00$ *	0,073 *	0,07 *	0,08 *	0,044 *
Limfocyty	$0,65 \pm 0,13$	$0,52 \pm 0,12$	$0,63 \pm 0,1$	$0,52 \pm 0,11$	$0,7 \pm 0,05$
Limfocyty T	$0,2 \pm 0,02$	$0,3 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,06$	$0,59 \pm 0,04$
Limfocyty B	$0,8 \pm 0,02$	$0,7 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,05$	$0,41 \pm 0,04$

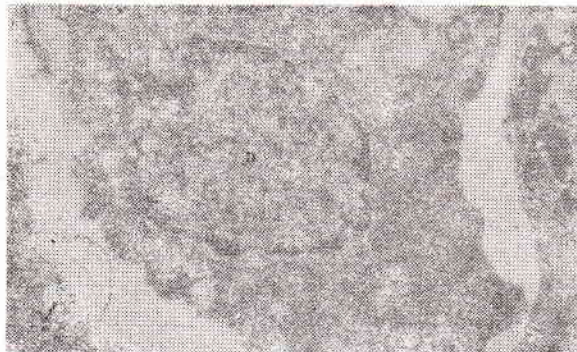
Objaśnienia: K — grupa kontrolna (bez Wisolu), D — grupa doświadczalna (Wisol), * — różnica statystycznie istotna na poziomie $P \leq 0,001$.

pował częściowy zanik mikrotubul. Natomiast u myszy otrzymujących preparat obserwowano nieznaczne zwiększenie ilości ziaren glikogenu oraz pojedyncze ziarna lipidów, a także nieliczne cytosegregosomy oraz wakuole autofagiczne w okolicy kanalików żółciowych. W 200 dniu doświadczenia u myszy nie otrzymujących Wisolu stwierdzano prawie zupełny zanik glikogenu, pojawienie się ziaren lipidowych, wakuolizację cytoplazmy wyrażającą się rozdęciem kanałów siateczki śródplazmatycznej, zupełny zanik mikrotubul i obrzęk pojedynczych mitochondriów. W grupie myszy otrzymujących preparat występowały nieliczne ziarna glikogenu, rozdęcie niektórych cystern siateczki śródplazmatycznej, zanik mikrotubul i obrzęk pojedynczych mitochondriów.

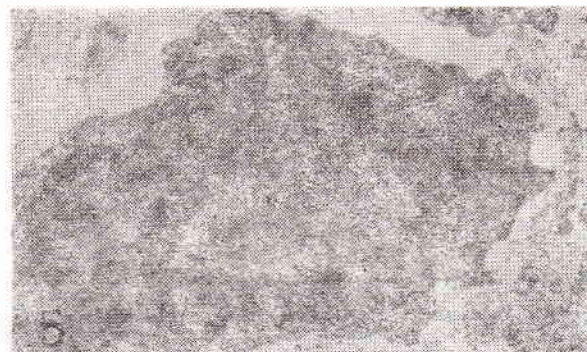
Śledziona — u myszy w dniu „0” obserwowano w komórkach siateczki zwiększenie ilości lizosomów i pojawienie się większej liczby form blastycznych limfocytów. W 100 dniu doświadczenia u myszy nie otrzymujących Wisolu stwierdzano większą liczbę lizosomów w komórkach siateczki i pojawianie się pojedynczych lizosomów w licznych limfoblastach. W 200 dniu doświadczenia u myszy nie otrzymujących Wisolu spotykano podobne zmiany jak w 100 dniu eksperymentu, a ponadto na powierzchni niektórych komórek resztki błon, prawdopodobnie wewnątrzkomórkowych, które mogły być wyrzucane z tych komórek, jak też pyknozę jąder komórkowych. Natomiast u myszy otrzymujących preparat występowały nieliczne limfocyty z powierzchniowymi zwojami błon. Sporadycznie spotykano degeneracyjne formy limfocytów. Komórki siateczki wykazywały obfitość lizosomów.

Grasica — u myszy w dniu „0” obserwowano pojawianie się większej ilości form blastycznych limfocytów (ryc. 4, 5). W 100 dniu doświadczenia u myszy nie otrzymujących Wisolu stwierdzano zwiększenie obszaru ziarnistej siateczki śródplazmatycznej oraz większą liczbę lizosomów w komórkach siateczki grasicy, jak również pojawianie się lizosomów w licznie występujących limfoblastach (ryc. 6, 7). W grupie myszy otrzymujących preparat obserwowano podobne zmiany ultrastrukturalne jak u myszy kontrolnych. W 200 dniu doświadczenia u myszy nie otrzymujących Wisolu wykazano liczne ciała Hassalla, formy degeneracyjne limfocytów oraz na powierzchni zarówno limfoblastów jak i limfocytów liczne zwoje błon, tj. takie, jakie stwierdzano w śledzionie. Natomiast u myszy otrzymujących preparat obserwowano limfocyty z powierzchniowymi zwojami błon i nieliczne formy degeneracyjne limfocytów. Komórki siateczki grasicy posiadały dobrze rozwiniętą ziarnistą siateczkę śródplazmatyczną oraz liczne lizosomy. Notowano także bardzo liczne ciała Hassalla (ryc. 8, 9, 10).

W badaniu Chl surowice myszy kontrolnych



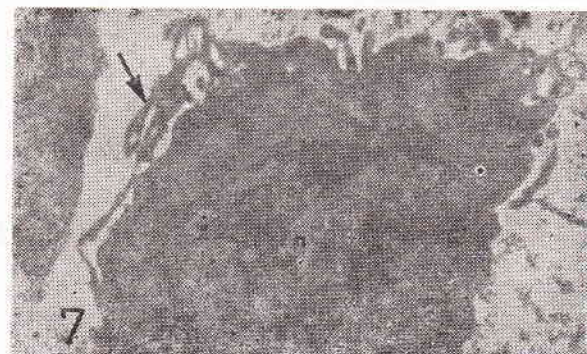
Ryc. 4. Komórka siateczki grasicy myszy w dniu „0” eksperymentu, n — jądro. Pow. 14 100X



Ryc. 5. Limfocyt grasicy myszy w dniu „0” eksperymentu, n — jądro. Pow. 15 000X



Ryc. 6. Komórka siateczki grasicy myszy kontrolnych, av — wakuole autofagiczne, n — jądro. Pow. 21 000X



Ryc. 7. Limfocyt grasicy myszy kontrolnych. Liczne wypustki cytoplazmatyczne oraz zwoje błon cytoplazmatycznych (→), n — jądro. Pow. 14 200X

charakteryzował mierny wzrost natężenia reakcji wolnorodnikowych w dniu „0” ($k = -4,0 \times 10^{-3}$), nieznaczny jej zanik w 100 dniu doświadczenia ($k = 0,8 \times 10^{-3}$) i gwałtowny wzrost w 200 dniu ze stałą $k = 23,0 \times 10^{-3}$. Natomiast grupę doświadczalną charakteryzował słaby wzrost reakcji wolnorodnikowych w „0” i 200 dniu doświadczenia (odpowiednio $k = -4,0 \times 10^{-3}$ i $-3,0 \times 10^{-3}$) oraz nieznaczne obniżenie w 100 dniu ze stałą $k = 1,6 \times 10^{-3}$. W wyciągach ze śledziony nieznaczny wzrost poziomu WR notowano tylko w 100 dniu doświadczenia, przy czym był on dwukrotnie wyższy w grupie kontrolnej ($k = -0,7 \times 10^{-3}$), aniżeli w grupie doświadczalnej ($k = -0,3 \times 10^{-3}$). Natomiast w wyciągach z wątroby nie obserwowano różnic między obiema porównywanymi grupami myszy ($k = 2,6 \times 10^{-3}$; $k = 2,3 \times 10^{-3}$).

Myszy z grupy nie otrzymującej Wisolu, padły między 10—11 miesiącem życia wśród typowych zmian białaczkowych. Natomiast u myszy grupy otrzymującej preparat, po zabiciu ich w 15 miesiącu życia (447 dni), stwierdzono słabo rozwiniętą białaczkę limfatyczną. Masę ciała myszy, masę narządów wewnętrznych (wątroba i śledziona) oraz ich stosunek procentowy do siebie przedstawiają rys. 1—3.

Z przeprowadzonych badań wynika, że długotrwałe (15 miesięcy) podawanie myszom szczepu wysokobiałaczkowego NZB mieszanki mineralnej Wisol-BM w paszy, prowadzi do późniejszego ujawniania oraz częściowego hamowania rozwoju procesu nowotworowego. Hamowanie procesu białaczkowego ma charakter zarówno ilościowy, jak i jakościowy. Natomiast u myszy nie otrzymujących preparatu obserwowano wzrost masy narządów z rozleglejszymi i szybciej pojawiającymi się zmianami morfologicznymi — typu białaczki limfatycznej, wyraźnie zróżnicowanej (lymphoid leukemia well differentiated). Zmiany histopatologiczne i ultrastrukturalne obserwowano przede wszystkim w węzłach chłonnych i śledzionie, gdzie zwykle u myszy wysokobiałaczkowych pojawiają się najwcześniej.

Badania różnicujące metabolizm komórki nowotworowej od prawidłowej mogą przyczynić się do poznania złożonego mechanizmu procesu nowotworowego. Wiele prac dotyczyło badań porównawczych nad enzymami, ale dotychczas nie doprowadziły one do wykrycia zmian enzymatycznych, które byłyby całkowicie swoiste tylko dla tkanki nowotworowej. Stwierdzone różnice miały głównie charakter ilościowy, a nie jakościowy.

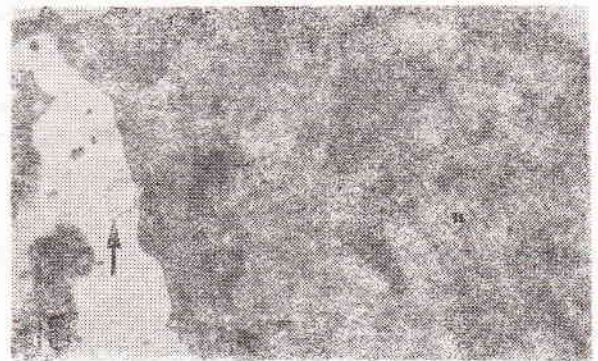
W badaniach własnych, zarówno w surowicy krwi jak i homogenatach z wątroby, nie stwierdzono istotnych różnic w aktywności takich enzymów, jak: AA-Co, LAP oraz AAP, pomiędzy grupą otrzymującą oraz pozbawioną preparatu Wisol-BM. Natomiast różnice wystąpiły w aktywności GGT w wątrobie, gdzie notowano jej wzrost u myszy kontrolnych z roz-



Ryc. 8. Zaawansowana degeneracja limfocyta grasicy myszy otrzymujących Wisol, rn — resztki jądra komórkowego, v — wakuolizacja cytoplazmy. Pow. 28 100 X



Ryc. 9. Komórka siateczki grasicy myszy, które otrzymywały Wisol, n — jądro. Pow. 19 200 X



Ryc. 10. Limfocyt grasicy myszy, które otrzymywały Wisol, n — jądro, (→) — pojedyncze błony cytoplazmatyczne. Pow. 17 800 X

wijającą się białaczką. Obserwowano natomiast wyraźne zmiany aktywności enzymów w komórkach nowotworowych. W grupie myszy nie otrzymujących preparatu wykazano wyraźny spadek aktywności enzymów hydrolitycznych zawartych w lizosomach, tj. fosfatazy kwaśnej, beta-glukuronidazy i lizozymu. Spadek aktywności enzymów lizosomalnych u myszy z rozwijającą się białaczką świadczy o obniżeniu możliwości obronnych komórek RES. Odnotowano także spadek aktywności dwuaminobenzydyny (DAB) — enzymu będącego markerem peroksysomów — co świadczy o osłabieniu ak-

tywności enzymów rozkładających bardzo toksyczny dla komórki H_2O_2 .

Badania morfologiczne krwi ujawniły pewne różnice między grupą kontrolną a doświadczalną myszy na korzyść obrazu u zwierząt otrzymujących preparat Wisol. U myszy kontrolnych stwierdzono wyraźną eozynofilię, monocytosę oraz wzrost ilości T receptorowych limfocytów.

Przypuszczalny udział WR — struktur zawierających niesprawny elektron — w etiopatogenezie nowotworzenia budzi zrozumiałe zainteresowanie. Wolne rodniki uważane są za substancje niezwykle toksyczne dla biologicznych membran komórkowych, doprowadzają do peroksydacji zawartych w nich lipidów i nienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA). W badaniach własnych stwierdzono, że podawanie myszom paszy zawierającej mieszankę mineralną Wisol-BM wpływa hamująco na wzrost ilości wolnych rodników i to zarówno w surowicy krwi, jak i narządach wewnętrznych. Preparat ten działa stabilizująco na procesy wolnorodnikotwórcze, podobnie jak czynią to niektóre antyoksydanty, np. witamina E i C oraz Se. Można zatem przyjąć, że mechanizm hamowania rozrostu białaczki limfatycznej u myszy, u których stosowano preparat Wisol opiera się w pewnym zakresie na hamowaniu reakcji indukowania wolnych rodników. Natomiast u zwierząt kontrolnych stwierdzono istotną zależność wyrażającą się wzrostem poziomu WR, w miarę rozwoju białaczki.

Korzystne wyniki badań uzyskane na myszach z białaczką limfatyczną przemawiają za możliwością wykorzystania preparatu — Wisol-BM w zapobieganiu enzoptycznej białaczce u bydła. Zagadnienie to jest aktualnie w opracowaniu.

Piśmiennictwo

1. Aleksandrowicz J.: Wiedza stwarza nadzieję. WP, 1975.
2. Bielschowsky M., Helyer B. J., Howie J. B.: Proc. Univ. Otago Med. School 37, 9, 1959.
3. Bloch L. K.: Cancer Res. 33, 20, 1973.
4. Bradford M. M.: Analyt. Biochem. 72, 248, 1976.
5. Gomori G.: Microscopic histochemistry. The Univ. of Chicago Press, 1953.
6. Harman D.: Red. Res. 16, 753, 1962.
7. Hayashi M., Nakajima Y., Fishman W. H.: J. Histochem.

- Cytochem. 12, 292, 1964.
8. Helyer B. J., Howie J. B.: Br. J. Haemat. 9, 119, 1953.
9. Instrukcja Nr 2 — białaczka P 388. Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, 1982.
10. Kotz J., Basmadji K., Madej J. A.: Medycyna Wet. 34, 89, 1978.
11. Mazurczak J., Owczarczyk B., Russak G.: Medycyna Wet. 34, 603, 1978.
12. Mueller J., Brun del Re G., Buerki H., Keller H. U., Hess M. W., Goltier H.: Europ. J. Immunol. 5, 270, 1975.
13. Novikoff A. B., Goldfischer S.: J. Histochem. Cytochem. 16, 507, 1968.
14. Wiczorek E., Sobiech K. A.: Enzyme 24, 269, 1979.
15. Witting L. P.: Am. J. clin. Nutr. 3, 952, 1974.

Adres autora: doc. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskiego 4/5, 50-345 Wrocław

Мадей Я. А., Кашубкевич Ч., Климентовский С., Мазуркевич М., Курьшко Я., Собех К. А. — Исследования влияния минеральной смеси Wisol-BM на развитие лимфатического лейкоза у мышей

Мышам высоколейкемического штамма NZB (New Zealand Black) вводили в течение 15 месяцев в корме минеральную смесь Wisol-BM в количестве 2 г/гол./день. Мышей убивали через 100 и 200 дней опыта. Часть животных оставили живыми. Выполняли анатомо-патологические, гистоэнзиматические исследования тканей, энзиматические исследования плазмы, гематологические, ультраструктурные и химилюминесцентные исследования. Отметили, что примененный препарат вызывает отчетливое значительное заторможение и замедление развития опухолевого процесса (коэффициент $\frac{L}{K} \times 100\% = 132,6\%$). Механизм торможения развития лимфатического лейкоза у мышей опирался, вероятно, на явление затухания свободнорадикальных реакций из-за действия Wisol. Тушение индукции свободных радикалов препаратом было похоже на механизм действия антиокислителей.

Мадей Я. А., Кашубкевич Ч., Климентовский С., Мазуркевич М., Курьшко Я., Собех К. А. — Studies on the influence of mineral mixed feed Wisol-BM on the development of lymphatic leukaemia in mice

Mice highly susceptible to leukaemia (New Zealand Black) were fed for 15 months a mixed mineral feed Wisol-BM at a dose of 20 g/mouse/day. The animals were sacrificed at 100 and 200 day of the experiment and then anatomo-pathological lesions, histoenzymatic changes in tissues and plasma, hematologic, ultrastructural and chemiluminescence examinations were performed. It was found that the used mixed feed significantly restrained and retarded the development of neoplasms process (coefficient $\frac{L}{K} \times 100\% = 132,6\%$).

Mechanism of this action probably was based on cessation of free radical reactions by Wisol. Cessation of free radicals induction by Wisol was related to the action of antioxidants.

SIDOL L., BARIGAZZI G., SCHIANCHI P., RUSSEL C. H., RUSSEL S. B.: Minimalne stężenie hamujące substancji przeciwbakteryjnych dla szczepów *Haemophilus pleuropneumoniae* izolowanych od świń. (Minimum inhibitory concentrations of antibacterial agents against of *Haemophilus pleuropneumoniae* from swine). Vet. Med. small anim. Clin. 79, 703—705, 1984 (5).

Określono wrażliwość 79 szczepów *Haemophilus pleuropneumoniae* (typ otoczkowy 2, 3, 4 i Holland) wyosobnionych z płuc świń na 22 substancje o działaniu przeciwbakteryjnym. Wszystkie badane substancje w stężeniu 0,05—50,0 µg/ml hamowały wzrost badanych szczepów. Najwyższą aktywność wykazywała

ampicylina (MIC=0,05—0,4 µg/ml), trimetoprim (MIC=0,05—0,2 µg/ml) i gentamycyna (MIC=0,05 µg/ml). Ze względu na dużą wrażliwość szczepów na penicylinę (MIC=0,05—1,5 µg/ml) dobrą tolerancję penicyliny przez organizm świń oraz niskie koszty leczenia tym antybiotykiem, penicylina jest lekiem z wyboru w zwalczaniu zakażeń wywołanych przez *H. pleuropneumoniae*. Tetracyklina mimo znacznie niższej aktywności (MIC=0,2—25,0 µg/ml) ze względu na dobrą absorpcję, niską toksyczność i dobre wyniki uzyskiwane w warunkach terenowych, może być również zalecana w terapii zakażeń wywołanych przez *H. pleuropneumoniae*.

G.