

IVAN MIKULA, JURAJ PISTL

Zastosowanie testu hamowania migracji leukocytów (LMI) w badaniach aktywności, swoistego dla *Salmonella*, dializatu leukocytnego

Katedra Mikrobiologii, Immunologii i Zoohigieny Wyższej Szkoły Weterynaryjnej,
ul. Komenskeho 73, 041-81 Košyce, CSRS

Summary

The use of the migration inhibition test of leucocytes (LMI) in the assessment of the activity of leukocytic dialysate specific for *Salmonella* spp.

The capillary migration inhibition test of leucocytes was administered to assay the activity of leukocytic dialysate (DIE). For this purpose there was used DLE derived from animals infected with *S. typhimurium* (DLEinf.), immunized with a vaccine containing *Salmonella* cells (DLEim.) and from clinically healthy animals (DLEn.). The results indicated that it was possible to determine the level of PU (potency unit) in the preparations of DLEinf. and DLEim. In contrast, DLEn. did not induce a specific migration inhibition of leucocytes.

Uzyskane drogą dializy ekstrakty leukocytów (dialyzable leukocyte extracts, DLE) stymulują tak swoistą, jak też i nieswoistą proliferację limfocytów (9, 11, 19, 31), produkcję czynnika hamującego migrację granulocytów obojętnochłonnych (1, 17, 35) oraz ich chemotaksję. Jego działanie polega także na zwiększeniu ilości tworzących rozety limfocytów T, supresji indukowanej antygenem lub mitogenem transformacji blastycznej, indukcji chemotaksji monocytów, oraz produkcji mediatorów odporności komórkowej takich jak cytokin, monokin i limfokin (12, 13, 17, 28).

Podstawową właściwością dializatu leukocytnego, określanego również jako „transfer factor” (TF), jest zdolność do przenoszenia antygenowo swoistej nadwrażliwości typu późnego. Testowano ją w toku eksperymentalnej infekcji gruźliczej, wywoływanej u chomika (7), myszy (32), małp (23) oraz ludzi (17). Za standardową metodę jej wykrywania przyjęto odczyn opuszkowy (22).

Efekt ochronny DLE w zakażeniach wywołanych przez flawowirusy, wirus *herpes simplex*, salmonelle oraz inne bakterie i wirusy jest testowany na modelu mysim (14, 17, 27, 30). Aktywność ilościowa DLE ustalana jest w oparciu o liczbę leukocytów, z których otrzymywany jest dializat (16, 25), określenie peptydów (24, 26) i rybozy (2, 20), a także pochłaniania światła przy gęstości optycznej OD 260/280 (4, 6, 21, 36, 37). W ocenie aktywności DLE stosowany jest także test hamowania migracji leukocytów w żelu agarozowym. Metoda ta umożliwia wykrycie defektów odporności komórkowej, dobór dawców DLE oraz oznaczenie jego potencjalnej aktywności. Wykorzystywana jest również w immunoterapii i immunoprofilaktyce w celu ustalenia dawek DLE oraz monitorowania odpowiedzi pacjentów podczas leczenia (35).

Na podstawie doświadczeń z wykorzystaniem testu hamowania migracji, jako jednostkę potencji „potency unit” (PU) przyjęto ilość DLE, która w obecności specyficznego antygeny powoduje 20% zahamowanie migracji leukocytów (35). W prezentowanej pracy starano się określić poziom PU w jednym ml swoiste-

go dla *Salmonella* DLE za pomocą kapilarowego testu hamowania migracji leukocytów.

Materiał i metody

W badaniach wykorzystano następujące dializaty leukocytów:

a) specyficzny dla *Salmonella* DLEinf (infekcyjny), uzyskiwany z węzłów chłonnych oraz śledzion ciałek immunizowanych inaktywowaną szczepionką z komórek salmonelli (29) i następnie zakażanych wirulentnym szczepem *S. typhimurium*. DLEinf w formie nieoczyszczonej uzyskiwano poprzez dializę ekstraktu leukocytów do wody destylowanej. Otrzymany dializat liofilizowano (8, 18, 33, 36).

b) specyficzny dla *Salmonella* DLEim (immunizacyjny) uzyskiwano z węzłów chłonnych oraz śledzion buhajów poddanych jedynie immunizacji szczepionką *Salmonella* (29). Dalsze przygotowanie dializatu prowadzono jak w punkcie a).

c) DLEn (nieswoisty) uzyskiwano z węzłów chłonnych oraz śledzion nieimmunizowanych, klinicznie zdrowych ciałek.

Dializaty z ekstraktów leukocytów po liofilizacji były ponownie rozpuszczane w wodzie destylowanej, a następnie oczyszczane przy użyciu aparatu Amikon z membraną UM5. Uzyskane preparaty testowano w trzech koncentracjach, na podstawie ustalonej gęstości optycznej, przy 260 nanometrach (OD 260 = 1.5, OD 260 = 1.5 w 10 i 100-krotnym zagęszczeniu). W teście hamowania migracji wykorzystywano 5–60 µl wszystkich koncentracji dializatu wyrażonych w wartościach OD. Dodawano je do 100 µl zawiesiny leukocytów.

Test hamowania migracji leukocytów. Biologiczną aktywność dializatów (DLEinf, DLEim, DLEn) określano w teście kapilarowym hamowania migracji leukocytów wg metody Bendixen (5) i wyrażono w jednostkach PU/ml dializatu (35).

Leukocyty docelowe. Komórki docelowe uzyskiwano z krwi obwodowej zdrowych ciałek poprzez osmotyczną lizę erytrocytów dejonizowaną wodą (15). Zawiesiny leukocytów (100 µl) o koncentracji 2×10^8 komórek w 1 ml, inkubowano w 37°C poprzez 60 min. w zamkniętych probówkach Eppendorfa, które zawierały płyn Eagle'a i odpowiednio różne objętości dializatu leukocytnego, antygen oraz antygen i dializat leukocytny (w różnych objętościach). W klasycznym teście hamowania migracji, reakcja leukocytów pochodzących od zdrowych ciałek na antygen *Salmonella* była negatywna (indeks migracji $\geq 0,90$).

Antygen. Antygen stanowiły inaktywowane termicznie 3-krotnie przemyte hodowle płynne *S. typhimurium* w koncentracji 2×10^{10} komórek w 1 ml. W oparciu o badania wstępne, antygen dodawano do zawiesiny leukocytów w stosunku 1:10.

Po inkubacji, poszczególnymi zawiesinami leukocytów napełniano heparynizowane 20 µl kapilary, które wirowano 500 × g przez 5 min., a następnie odcinano fragmenty zawierające komórki i przyklejano je wazeliną białą do dna zagłębienia płytek plastikowych (10 mm × 2 mm). Zagłębienia te wypełniano następnie supernatantem z pozostałej części kapilary oraz płynem Eagle'a zawierającym 10% surowicy cielęcej z antybiotykami (100 UI penicyliny i 100 µg streptomycyny). Tak przygotowane komory przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i inkubowano przez 18 godz. w 37°C. Ocenę uzyskanych wyników prowadzono wg Wilson i wsp. (35), określając trzy rodzaje indeksów migracji MI, MIA, MIB. Za jedną jednostkę potencji (PU) przyjęto najmniejszą ilość DLE, która indukowała 20% hamowania migracji leukocytów (10, 34, 35).

Statystyczną analizę wyników wykonano w oparciu o test t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Przy pomocy testu hamowania migracji leukocytów określono moc (ilość jednostek PU/ml), poszczególnych preparatów DLE.

1. W DLE^{inf} w koncentracji OD 260 = 1,5 × 10 indukował 22% hamowania migracji leukocytów w 15 μl preparatu (tab. 1). W testowanej koncentracji ustalono 66 PU w jednym ml preparatu. W przypadku OD 260 = 1,5 nie uzyskano wymaganego zahamowania migracji leukocytów.

Natomiast przy OD 260 = 1,5 × 100 stwierdzono wysoce istotne, wolne od toksycznego działania zahamowanie migracji leukocytów (27—37%).

2. W DLE^{im} w koncentracji OD 260 = 1,5 × 10 indukował 21% zahamowanie migracji leukocytów w objętości 55 μl (tab. 2). Testowana koncentracja zawierała 18 PU w jednym ml DLE o gęstości optycznej OD 260 = 1,5, podobnie jak w przypadku DLE^{inf}, nie indukował zahamowania migracji (tab. 2). Istotne zahamowanie migracji leukocytów wynoszące 21—29% stwierdzono natomiast przy koncentracji OD 260 =

Tab. 1. Określenie aktywności DLE^{inf} w teście LMI

DLE ^{inf} (μl)	OD ₂₆₀ = 1,5			MI (x ± s) OD ₂₆₀ = 1,5 × 10 zag.			OD ₂₆₀ = 1,5 × 100 zag.		
	MI ^A	MI ^B	%D ^B	MI ^A	MI ^B	%D ^B	MI ^A	MI ^B	%D ^B
10	1,02 ± 0,14	0,98 ± 0,09	4	0,81 ± 0,04	0,67 ± 0,09	18	0,78 ± 0,04	0,53 ± 0,09	33
15	1,07 ± 0,11	1,05 ± 0,06	2	0,83 ± 0,05	0,65 ± 0,05	22	0,80 ± 0,09	0,59 ± 0,06	27
20	0,94 ± 0,08	0,98 ± 0,08	3	0,84 ± 0,08	0,62 ± 0,07	27	0,82 ± 0,06	0,58 ± 0,07	30
25	1,03 ± 0,07	0,97 ± 0,12	6	0,79 ± 0,06	0,62 ± 0,09	22	0,77 ± 0,08	0,54 ± 0,02	30
30	0,97 ± 1,12	0,95 ± 0,14	2	0,82 ± 0,07	0,63 ± 0,06	24	0,81 ± 0,04	0,55 ± 0,04	32
35	0,95 ± 0,09	0,88 ± 0,09	7	0,78 ± 0,12	0,60 ± 0,11	24	0,80 ± 0,06	0,51 ± 0,03	37
40	0,88 ± 0,06	0,82 ± 0,11	7	0,80 ± 0,07	0,62 ± 0,07	23	0,79 ± 0,10	0,52 ± 0,08	34
45	0,85 ± 0,08	0,78 ± 0,10	9	0,85 ± 0,05	0,64 ± 0,09	25	0,82 ± 0,07	0,54 ± 0,05	34
50	0,83 ± 0,13	0,72 ± 0,07	14	0,81 ± 0,06	0,61 ± 0,05	25	0,76 ± 0,07	0,51 ± 0,07	33
55	0,81 ± 0,07	0,70 ± 0,06	12	0,81 ± 0,03	0,62 ± 0,12	23	0,78 ± 0,03	0,50 ± 0,12	36
60	0,81 ± 0,07	0,70 ± 0,06	14	0,83 ± 0,08	0,59 ± 0,09	29	0,78 ± 0,05	0,52 ± 0,08	33

Objaśnienia: DLE^{inf} = dializat leukocytarny — infekcyjny, MI = indeks migracji; %D^B = % antygenowo-zależnego zahamowania migracji leukocytów w teście LMI; OD₂₆₀ = gęstość optyczna DLE przy 260 nm.

Tab. 2. Określenie aktywności DLE^{im} w teście LMI

DLE ^{im} (μl)	OD ₂₆₀ = 1,5			MI (x ± s) OD ₂₆₀ = 1,5 × 10 zag.			OD ₂₆₀ = 1,5 × 100 zag.		
	MI ^A	MI ^B	%D ^B	MI ^A	MI ^B	%D ^B	MI ^A	MI ^B	%D ^B
10	0,96 ± 0,05	0,94 ± 0,08	1	0,97 ± 0,05	0,92 ± 0,06	5	0,82 ± 0,11	0,64 ± 0,07	22
15	1,01 ± 0,06	0,98 ± 0,05	3	1,02 ± 0,08	0,94 ± 0,08	8	0,80 ± 0,07	0,57 ± 0,04	29
20	0,89 ± 0,07	0,92 ± 0,03	—3	0,86 ± 0,04	0,78 ± 0,04	9	0,86 ± 0,09	0,62 ± 0,08	28
25	0,97 ± 0,03	0,89 ± 0,09	9	0,88 ± 0,07	0,82 ± 0,07	7	0,82 ± 0,04	0,64 ± 0,06	22
30	0,92 ± 0,05	1,04 ± 0,14	—13	0,83 ± 0,06	0,75 ± 0,05	10	0,78 ± 0,12	0,61 ± 0,07	22
35	1,03 ± 0,12	0,97 ± 0,06	6	0,81 ± 0,08	0,73 ± 0,07	10	0,72 ± 0,14	0,67 ± 0,12	21
40	0,98 ± 0,07	1,02 ± 0,04	—4	0,84 ± 0,07	0,70 ± 0,12	17	0,66 ± 0,11	0,58 ± 0,08	12
45	0,93 ± 0,07	0,87 ± 0,05	7	0,82 ± 0,04	0,70 ± 0,09	15	0,53 ± 0,08	0,49 ± 0,09	8
50	1,01 ± 0,09	0,91 ± 0,07	10	0,88 ± 0,05	0,72 ± 0,11	18	0,42 ± 0,06	0,38 ± 0,06	10
55	1,07 ± 0,06	0,99 ± 0,03	8	0,81 ± 0,06	0,64 ± 0,08	21	0,36 ± 0,10	0,32 ± 0,10	11
60	1,02 ± 0,07	0,94 ± 0,08	8	0,83 ± 0,05	0,62 ± 0,06	25	0,40 ± 0,07	0,38 ± 0,09	5

Objaśnienia: DLE^{im} — dializat leukocytarny — immunizacyjny, MI — indeks migracji; %D^B = % antygenowo-zależnego zahamowania migracji leukocytów w teście LMI; OD₂₆₀ — gęstość optyczna DLE przy 260 nm.

Tab. 3. Określenie aktywności DLEⁿ w teście LMI

DLE ⁿ (μl)	OD ₂₆₀ = 1,5			MI (x ± s) OD ₂₆₀ = 1,5 × 10 zag.			OD ₂₆₀ = 1,5 × 100 zag.		
	MI ^A	MI ^B	%D ^B	MI ^A	MI ^B	%D ^B	MI ^A	MI ^B	%D ^B
10	0,98 ± 0,12	0,96 ± 0,06	2	0,87 ± 0,06	0,84 ± 0,07	4	0,85 ± 0,06	0,89 ± 0,03	—5
15	1,02 ± 0,06	0,98 ± 0,07	4	0,91 ± 0,05	0,87 ± 0,05	4	0,82 ± 0,07	0,87 ± 0,06	—6
20	1,04 ± 0,09	1,05 ± 0,15	—1	0,82 ± 0,07	0,86 ± 0,09	—5	0,89 ± 0,04	0,82 ± 0,05	8
25	0,96 ± 0,10	1,03 ± 0,09	—7	0,83 ± 0,08	0,83 ± 0,05	1	0,85 ± 0,06	0,85 ± 0,07	0
30	0,98 ± 0,07	0,98 ± 0,08	0	0,87 ± 0,06	0,78 ± 0,12	3	0,80 ± 0,09	0,83 ± 0,07	3
35	1,12 ± 0,04	1,07 ± 0,14	4	0,85 ± 0,09	0,85 ± 0,08	0	0,81 ± 0,12	0,86 ± 0,04	—6
40	0,97 ± 0,13	1,02 ± 0,08	—5	0,92 ± 0,06	0,88 ± 0,06	4	0,76 ± 0,15	0,81 ± 0,12	—6
45	0,95 ± 0,11	0,98 ± 0,04	—3	0,86 ± 0,08	0,80 ± 0,07	7	0,82 ± 0,08	0,84 ± 0,08	—2
50	0,93 ± 0,07	0,91 ± 0,09	2	0,83 ± 0,04	0,85 ± 0,10	2	0,83 ± 0,05	0,80 ± 0,16	4
55	1,02 ± 0,05	0,96 ± 0,05	6	0,85 ± 0,07	0,79 ± 0,12	7	0,78 ± 0,13	0,83 ± 0,09	—6
60	0,89 ± 0,12	0,92 ± 0,03	—3	0,90 ± 0,11	0,88 ± 0,12	2	0,80 ± 0,07	0,85 ± 0,04	—6

Objaśnienia: DLEⁿ = dializat leukocytarny — nieswoisty, MI = indeks migracji; %D^B = % antygenowo-zależnego zahamowania migracji leukocytów w teście LMI; OD₂₆₀ = gęstość optyczna DLE przy 260 nm.

= 1.5×100 . Efekt toksyczny tego preparatu był widoczny w 40 i powyżej μl DLE. Manifestował się on silnym, nieswoistym, niezależnym od antygeny zahamowaniem migracji leukocytów (tab. 3).

3. Podczas testowania aktywności preparatu DLEⁿ, nie uzyskano antygenowo swoistego, 20% zahamowania migracji leukocytów. Przy żadnej z badanych koncentracji nie obserwowano także toksycznego oddziaływania preparatu (tab. 3).

Najwyższą antygenowo-swoistą aktywność, badaną w tęście hamowania migracji leukocytów wykazywał DLE^{inf} (tab. 1). Potwierdzenie otrzymanych wyników uzyskano *in vivo*, podczas testowania DLE swoistego dla salmoneli, na modelu mysim (30). W przypadku DLE^{im}, celem uzyskania efektów porównywalnych z DLE^{inf} wymagana jest odpowiednio wyższa dawka tego preparatu (tab. 2).

Podczas testowania DLE^{im} przy OD 260 = 1.5×100 w dawce powyżej 40 μl , stwierdzono efekt toksyczny preparatu. Wilson i wsp. (35), uzyskali umiarkowane hamowanie migracji leukocytów przy stosowaniu wysokich koncentracji, nieswoistych antygenowo DLE ($MI_A = 0,80-0,70$). Niska oraz przebiegająca poniżej optymalnej koncentracja często prowadziła do podwyższenia antygenowo-nieswoistej migracji ($MI_A \geq 1,10$). Moc DLE jest uwarunkowana stopniem koncentracji oraz swoistego hamowania migracji leukocytów ($MI_B < 0,9$). Według Wilson i wsp. (35) testowanie DLE przy wykorzystaniu testu hamowania migracji leukocytów naraża wiele trudności. Związane jest to między innymi z nieswoistym podwyższeniem migracji leukocytów wywołanej przez suboptymalne dawki DLE lub wywołaniem efektu toksycznego, który wyzwała antygenowo-nieswoiste hamowanie migracji.

Na podstawie uzyskanych wyników wyciągnięto wniosek, że kapilarowy test zahamowania migracji leukocytów jest odpowiedni do standaryzacji antygenowo swoistych preparatów DLE.

Piśmiennictwo

1. Ablin J.: Allergol. immunopathol. 8, 53, 1980.
2. Akashi K., Tanaka S., Okubo Y., Yamaguchi M., Tanaka M., Inui J., Ohno T., Saito K.: Immunobiology of Transfer Factor, wyd. Kirkpatrick H., Burger D. R., Lawrence M. S., Acad. Press, New York, 1983.
3. Arala-chaves M. P., Ramos T. F., Porto M. T.: Transfer Factor: Oasic properties and clinical applications. Acad. Press, New York, 1976.
4. Ashorn J., Votila A., Kuckkenen K., Rasenen L., Karhumaki E., Kron K.: Ann. Clin. Res. 17, 152, 1985.
5. Bendixen G., Bentzen K., Clausen J. E., Kjaer M., Seberg M.: Lymphocytes isolation, fractionation and characterization, wyd. Natvig J. B., Perlmann P., Wigzell H., suppl. Scand. J. Immunol. 1976, s. 197.
6. Borvák J., Mayer V.: Acta Virol. 29, 119, 1985.
7. Buchwald S., Schröder J., Matz A. N., Perepechkina N. P.: Proc. 5-th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava 1987, s. 45.
8. Fudenberg H. H.: Thymus, thymic hormones and T-lymphocytes. Acad. Press, London, 1980.
9. Fudenberg H. H., Wilson G. B., Keller R. H., Metcalf J. F., Pauling E. E., Stuart E. J.: Immunobiol. of Transfer Factor, wyd. Kirkpatrick H., Burger D. R., Lawrence H. S., Acad. Press, New York 1983, s. 293.
10. Fudenberg H. H.: Proc. 5-th Intern. Symposium on Transfer Factor, Bratislava, XX, 1987.
11. Fujisawa T., Yamaguchi Y., Kimura H.: Japan. J. Surgery, 13, 304, 1983.
12. Hainaut J., Thiot M., Rogust G., Brunet-Lecomite P., Saint-Blancaard J., Allaray M., Valleix J. P., Constant J. F.: Immunobiology of Transfer Factor, wyd. Kirkpatrick H., Burger D. R., Lawrence H. S. Acad. Press, New York 1983, s. 117.
13. Holtzman R. S., Borkowsky W., Pilson R., Lawrence H. S.: Immunobiology of Transfer Factor, wyd. Kirkpatrick H., Burger D. R., Lawrence H. S. Acad. Press, New York 1983, s. 117.
14. Huang L. E., Wan Zhi-Fang, Su Chen-Zhi.: Proc. Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava, 1987, s. 134.
15. Karlson G. P., Kaneko S. P.: Proc. Sec. Expl. Biol. Med., 142, 853, 1973.
16. Karlson G. P., Kaneko S. P.: Proc. Sec. Expl. Biol. Med., 142, 853, 1973.
17. Khan A., Negata K., Hansen B., Antonetti A., Hill J. M., Pardue A. S., Loebe E., Hill N. O.: Immune regulators in transfer factor, wyd. Khan A., Kirkpatrick H., Hill N. O. Acad. Press, New York, 1979.

17. Klesius P. H.: Proc. 5th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava, 203, 1987.
18. Lawrence H. S.: J. Clin. Invest. 34, 219, 1956.
19. Lawrence H. S., Borkowsky W.: 6th Intern. Immunol. Con., Toronto, 3, 367, 1986.
20. Lesourd B., Marescot M. R., Doumerc S., Thiollet M., Moulias R., Person S. P., Ederienis A., Pilet C.: Immunology of Transfer Factor, wyd. Kirkpatrick H., Burger D. R., Lawrence H. S. Acad. Press, New York, 1983, s. 203.
21. Li Zailian: Stienica Sinica 28, 394, 1985.
22. Li Zailian: Proc. 5th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava 1987, s. 84.
23. Maddison S. E., Hicklin M. D., Conway B. P., Kagan I. G.: Science, 178, 757, 1972.
24. Marescot M. R., Lesourd B., Thiollet M., Moulias R., Hainaut J., Blancard B.: Immune regulation in transfer factor, wyd. Khan A., Kirkpatrick C., Hill N., Acad. Press, New York 1979, s. 151.
25. Marescot M. R., Lesourd B., Thiollet M., Moulias R.: Proc. 5th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava 1987, s. 105.
26. Mayer V., Gajdosova E., Valaskova M., Oravec C.: Acta Virol. 29, 25, 1985.
27. Mayer V., Borvák J., Gajdosova E.: Proc. 5th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava 1987, s. 45.
28. Mendes W. F., Saravia P. J., Santos O. B.: Cell. Immunol. 17, 560, 1975.
29. Mikula I., Rosozha J., Pilipinec E.: Acta veterinaria Hung. 1988 (w druku).
30. Mikula I., Pistl J.: Acta veterinaria 2, 1989 (w druku).
31. Mitrova E., Mayer V.: Proc. 5th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava, 1987, s. 164.
32. Paddock G. V.: Proc. 5th Intern. Symp. on Transfer Factor, Bratislava 1987, s. 2.
33. Pekarek J., Cech K.: Zpravy SEVAC 1, 3, 1986.
34. Wilson G. B., Fudenberg H. H.: Immunol. Today, 4, 157, 1983.
35. Wilson G. B., Metcalf J. F., Fudenberg H. H.: Clin. Immunopathol. 23, 478, 1982.
36. Wilson G. B., Fudenberg H., Paddock G. V., Tsang K. Y., Williams A. M., Floyd E.: Immunobiology of Transfer Factor, wyd. Kirkpatrick H., Burger D. R., Lawrence H. S.: Acad. Press, New York 1983, s. 331.
37. Zielinski C. C., Savoini E., Ciotti M., Orani R., König-Swieser H., Eibl M. M.: Cell. Immunol. 84, 200, 1984.

Adres autora: doc. dr Ivan Mikula, CSC., Katedra Mikrobiologie, Immunologie a Zoohygieny, Vysoká Škola Veterinárni, ul. Komenského 73, 041 81 Košice, CSRS

GAUGHAN E. M., HACKETT R. P., DUCHARME N. G., RAKESTRAW P. C.: Ocena kliniczna unerwienia czuciowego gardzieli koni. (Clinical evaluation of laryngeal sensation in horses). Cornell Vet. 80, 27-34, 1990 (1)

Przebadano unerwienie czuciowe gardzieli, stosując bodźce dotykowe indukowane tępymi szczypcami biopsyjnymi wprowadzanymi przez wideoskop. Dwadzieścia koni bez uchwytnych zaburzeń motorycznych gardzieli poddano badaniom, przy czym każdorazowo stymulowano 10 punktów w gardzieli. U 5 koni, u których wykonano jednostronne przecięcie dolnej gałązki lewego czaszkowego nerwu gardzielowego wykonano stymulację przed operacją oraz po tygodniu po zabiegu chirurgicznym. Oddziaływanie na bodźce rejestrowano na taśmie wideo. Na reakcję dotykową u zdrowych koni nie wpływała narkoza indukowana chlorowodorkiem ksylazyny. Przecięcie nerwu gardzielowego zmniejszyło reaktywność po stronie przeciętego nerwu.

G.

SCHULZ K. S., SIMMONS T. R., JOHNSON R.: Pierwotne zapalenie dróg żółciowych i wątroby u konia. (Primary cholangiohepatitis in a horse). Cornell Vet. 80, 35-40 1990 (1)

U klaczy w wieku 8 lat hospitalizowanej w klinice Chorób Dużych Zwierząt Nowojorskiego Wydziału Weterynaryjnego wystąpiła utrata łaknienia, gorączka i żółtaczka. Niechęć do jada, depresja i wypadanie języka zauważono już wcześniej. Badanie enzymów wątrobowych wykonane 1 dnia pobytu w klinice wykazało, że poziom AspAT wynosi 1682 uł, AP 1478 uł, gamma glutamyltransferazy 225 uł, poziom całkowitej bilirubiny 14,7 mg/10 ml. Po 5 dniach wartości te wynosiły odpowiednio 422, 1389 i 179, zaś powrót do normy wszystkich badanych parametrów wystąpił po 4 miesiącach. W oparciu o oznaczenie aktywności enzymów wątrobowych, poziomu kwasów żółciowych w surowicy, stężenia amoniaku we krwi, badania ultrasonograficzne i biopsyjne wątroby zdiagnozowano pierwotne septyczne zapalenie dróg żółciowych i wątroby.

G.