Studie Výzkumního ústavu veterinárního lékařství Brno, Oddělení imunologie, vedené MVDr. Martinem Faldynou, PhD.

Vliv směsi biologicky aktivních fosfolipidů (BAF) obsažených v produktu OVOSAN na intenzitu zánětu plicního parenchymu u prasat

Cíl pokusu:

Cílem experimentu bylo posoudit protizánětlivý efekt výživového doplňku obsahujícího směs BAF (biologicky aktivních fosfolipidů) obsažených v komerčně vyráběném produktu OVOSAN v průběhu experimentální infekce prasat bakterií *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App).

Experimentální design:

Do studie bylo zařazeno celkem 12 selat po odstavu (průměrná váha 10-15 kg), rozdělených do dvou skupin po 6 kusech. Selata pocházela z chovu, ve kterém nebyl dlouhodobě zaznamenán výskyt klinické formy App infekce. Selata ani jejich matky nebyly vakcinovány proti App a ELISA metodou byly v séru selat před zahájením pokusu prokázány pouze velmi nízké hladiny protilátek proti App.

První skupině selat byl 2krát denně po dobu 28 dní, v objemu 5 ml na kus, perorálně podáván injekční stříkačkou čistý slunečnicový olej a druhé skupině 15% roztok BAF ve stejném režimu a dávce. Všechna selata byla 14 dní po zahájení suplementace BAF (případně čistým olejem) experimentálně infikována bakterií *Actinobacillus pleuropneumoniae,* intranasální aplikací 3 ml bakteriální kultury, 1,5 ml do každého nosního otvoru.

Po celou dobu experimentu byl monitorován zdravotní stav zvířat, v pravidelných intervalech byly odebírány vzorky krve na hematologické a sérologické vyšetření (stanovení protilátek proti App) a dále byl ve čtyřech termínech – před zahájením suplementace, bezprostředně před infekcí, jeden a tři dny po experimentální infekci – odebrán vzorek krve za účelem stanovení cytokinů akutní fáze – interleukin 1 a 8 – pomocí komerčně dostupného ELISA kitu.

Prasata v terminálním stádiu onemocnění nebo na konci experimentu (2 týdny po infekci) byla bezbolestně utracena předávkováním anestetik (T61, dávka podle aktuální váhy zvířete dle doporučení výrobce), zvážena a podrobena pitvě. Při pitvě byl posouzen stav plicního parenchymu a bylo určeno tzv. plicní skóre, které vyjadřuje míru postižení plicního parenchymu. Zároveň byla odebrána laváž bronchoalveolárních prostor (BALF) na sérologické vyšetření a cytologické posouzení buněčného infiltrátu.

Výsledky:

Čelenží se nám podařilo vyvolat App infekci u všech selat, ale v klinickém průběhu infekce a v rozsahu změn vyvolaných App infekcí byly mezi skupinami rozdíly. U selat ve skupině 1 (čistý slunečnicový olej) bylo již po 6–10 hodinách od provedení infekce zaznamenáno zrychlení dechové frekvence, dyspnoe a začínající mírný kašel, tělesná teplota se zvýšila u všech 6 selat, k jejímu poklesu docházelo pomalu a ještě týden po infekci byla tělesná teplota u dvou selat nad fyziologickým rozmezím. U selat ve skupině 2 (směs BAF) bylo po 6–10 hodinách od provedení infekce také zaznamenáno zrychlení dechové frekvence a dyspnoe a v prvním dni po infekci došlo také ke zvýšení tělesné teploty. Klinické příznaky infekce vymizely již v průběhu druhého dne po čelenži.

V periferní krvi se u infikovaných selat již během prvního dne po infekci zvýšil celkový počet leukocytů (především díky neutrofilii) a v diferenciálním rozpočtu klesalo zastoupení lymfocytů a zvyšovalo se zastoupení neutrofilních granulocytů. Tyto změny potvrzovaly probíhající bakteriální infekci. Vyšší hodnoty celkového počtu leukocytů byly naměřeny ve skupině 1. Počty leukocytů včetně diferenciálního rozpočtu buněk se postupně od 1. do 7. dne po infekci vracely do fyziologického rozmezí, ale výrazně pomaleji u selat ve skupině 1 (slunečnicový olej) než ve skupině 2 (suplementované BAF).

Ve vzorku tekutiny z dýchacích cest – BALF - se u zdravých prasat počet jaderných buněk pohybuje v rozmezí 0,8–5 x 10^6/ml a v diferenciálním rozpočtu převažují makrofágy (85–98 %) a neutrofilní granulocyty a lymfocyty bývají přítomny v malém počtu (neutrofilní granulocyty 0–5 %, lymfocyty 5–10 %). Dva týdny po infekci byly ve vzorcích BALF odebraných postmortem zvýšen celkový počet jaderných buněk, a to statisticky významně více u selat z kontrolní skupiny č.1 (slunečnicový olej) než u skupiny 2 (směs BAF). Byly zachyceny změny v diferenciálním rozpočtu buněk v BALF. Snižovalo se procentuální zastoupení makrofágů a zvyšoval se relativní počet neutrofilních granulocytů, což je opět známkou probíhající bakteriální infekce.

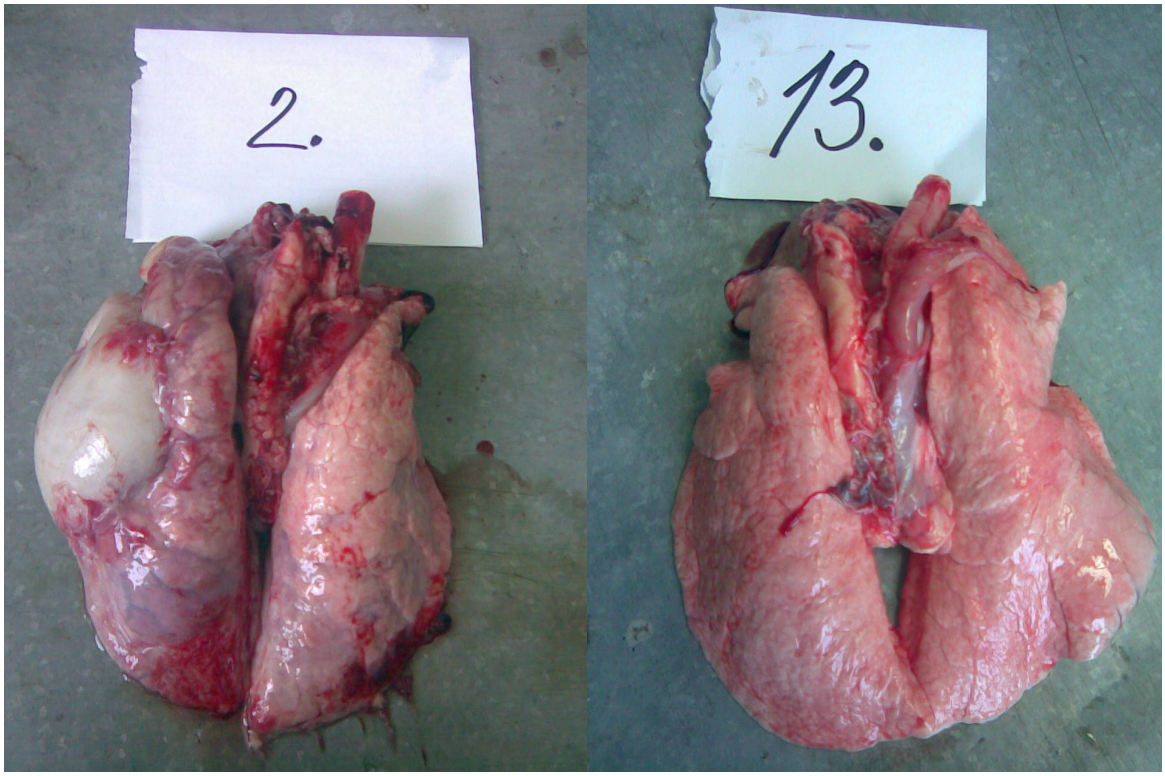
Při pitvě plicního parenchymu (14 dní po čelenži) se ukázalo, že ve skupině 1 (slunečnicový olej) měly změny parenchymu chronický charakter, jednalo se o nekroticko-fibrinózní pneumonie s (nebo bez) výskytu pleuritidy a perikarditidy. Změny v době utrácení perzistovaly často již pouze ve formě fokálních sekvestorů nebo opouzdřených abscesů nebo došlo k reparaci postižené plicní tkáně pojivovou tkání (jizvou). V této skupině bylo průměrné procento postižení plicní tkáně 34%. Ve skupině č. 2 suplementované BAF se ani v jednom případě nevyskytla pleuritida ani perikarditida a průměrné postižení plicní tkáně bylo jen 4%. Tento meziskupinový rozdíl byl statisticky významný. Na obrázku můžete vidět plíce selete ze skupiny 1 (slunečnicový olej) ve srovnání s plicemi selete ze skupiny 2 (směs BAF).

Literatura – reference:

1. MIKHAEVICH I.S., GERASIMOVA G.K., KÁRA J.: Inhibition of protein kinase C by semisynthetic phospholipid plasmanyl-(N-acyl)ethanolamine, a nontoxic antitumor preparation. Biochemistry International, 23, 215-220, 1991

2. KÁRA J., LIEBL V., PELCBAUER Z.: Natural and semisynthetic ether phospholipids with selective antitumor aktivity; their chemical structure and mechanism of action leading to tumor cell membrane destruction. (in: Highlights of Modern Biochemistry, Prague, Czechoslovakia, July 10-15, 1988) vol. 2, pp. 1459-1474 1989, Editors: A. KOTYK, J. ŠKODA, V. PAČES, V.KOSTKA, VSP Utrecht, The Netherlands, 1989.

3. KÁRA J.: Ether-fosfolipidy v onkologii. Chemické listy, 87, 58-63, 1993



Plíce prasete z kontrolní skupiny 1
(pouze slunečnicový olej)

Plíce prasete ze skupiny 2
(suplementované BAF)