

wyników w zastosowaniu Evetselu z danymi innych autorów (2, 3) stosujących w skojarzony sposób selen i witaminę E wynika stąd, że podawali oni te substancje nie jednorazowo, a przez dłuższy okres czasu.

Wnioski

1. Jednorazowe zastosowanie Evetselu u loch nie wywarło istotnego wpływu na polepszenie wskaźników rozrodu, ani na zmniejszenie odsetka loch kierowanych na ubój z konieczności.

2. Zastosowanie w dniu odsadzenia prosiąt 600 mg wit. E w istotny sposób polepszyło wyniki rozrodu i zmniejszyło straty wśród loch.

Piśmiennictwo

1. Anon. Evetsel. oPfla Kraków 1985.
2. Gorodeckij A., Poležaeva V., Popov A.: Svinovodstvo, Moskva, nr 1, 17, 1985.
3. Mihailović M., Pavlović A., Radetić P.: Acta vet., Beograd, 32, 275, 1982.
4. Neundorf R., Seidel H.: Schweinekrankheiten. G. Fischer Verlag Jena 1972, s. 385.
5. Schöffler A.: Dt. Tierärztl. Wschr. 81, 288, 1974.
6. Subin A., Subina L.: Svinovodstvo, Moskva, nr 6, 32, 1984.
7. Wiesner E., Berschneider F., Neuffer K., Willer S.: Mh. Vet.-Med. 34, 401, 1979.

Adres autora: dr Andrzej Wandurski, ul. XXX-lecia PRL 5B m. 4, 64-820 Szamocin

Вандурский А. — Результаты применения Evetsel у свиноматок

Ампула препарата Evetsel содержит в 10 мл жидкости 750 мг витамина Е и 10,95 мг селенита натрия. Evetsel наряду с предотвращением миопатии полезно влияет на плодовитость животных. Evetsel

применено у 141 свиноматок которым на 3 неделе лактации (2—3 недели до случки) вводили по 375 мг вит. Е и 5,5 мг селенита натрия. Контроль составляло 135 свиноматок, которым в день отъема поросят применили 300 мг вит. Е, и 146 свиноматок, получивших в день отъема по 600 мг вит. Е.

Наивысшую плодовитость (82,9%) показали свиноматки по применению 600 мг вит. Е относительно 74,5% у свиноматок по применению Evetsel. От каждаых 100 свиноматок из группы, получавшей по 600 мг вит. Е, получили 923,1 поросенка, а после Evetsel — 716,3 поросенка. Перед ближайшими родами выбраковали после Evetsel 21,3% свиноматки, а после 600 мг вит. Е — 12,3%.

Однократный ввод Evetsel у свиноматок до случки не повлиял на улучшение результатов репродукции.

Wandurski A. — Results of Evetsel application in sows

One ampule of Evetsel contains in 10 ml of a liquid 750 mg of Vitamin E and 10.95 mg of sodium selenite. A preparation is used for myopathy prophylaxy and it affects also fertility. Evetsel was applied in 141 sows at the 3rd week of lactation (2—3 weeks before mating) at a dose of 375 mg of vitamin E and 5.5 mg of sodium selenite. As a control served 135 sows injected with 300 mg of vitamin E at a day of weaning and 146 sows injected vitamin E at the same time at a dose of 600 mg.

The highest fertility (82.9%) was noted in sows injected 600 mg of vitamin E, but only 74.5% of sows treated with Evetsel was fertile. From 100 sows injected vitamin E at a dose of 600 mg 923.1 piglets was obtained while from 100 sows treated with Evetsel only 716.3 piglets was obtained. From a group treated with Evetsel and vitamin E at a dose of 600 mg, 21.3% and 12.3% of piglets was culled before new parturition. The application of Evetsel in sows once before mating does not affect their fertility.

PROFILAKTYKA I HIGIENA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

ALEKSANDRA MALINOWSKA, RENATA DĄBROWSKA, JACEK OSTROMECKI

Badania nad niektórymi metabolitami biosyntezy hemu występującymi we krwi i moczu loch w warunkach chowu przemysłowego*)

Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa

Synteza hemu z bursztynylo-CoA i glicyny jest procesem bardzo złożonym i dotychczas w pełni niewyjaśnionym. Rozpoczyna się ona w mitochondriach, a dopiero reakcje od wytworzenia porfobilinogenu do syntezy koproporfirynogenu przebiegają w cytosolu. Dalsze reakcje prowadzące do powstania protoporfiryny IX i hemu ponownie zachodzą w mitochondriach.

Na syntezę hemu wywierają wpływ różne czynniki, spośród których istotne znaczenie ma jej ostateczny produkt — hem. Oddziałują one w dwojaki sposób na syntezę kwasu 5-aminolewulinowego (ALA-syntetaza): jako efektor allosteryczny bądź jako represor genu odpowiedzialnego za syntezę tego enzymu.

Zaburzenia procesu biosyntezy hemu wynikają przede wszystkim ze wzmożonej aktywności ALA-syntetazy, prowadzącej do nadprodukcji porfiryn i hemu. Indukcję genu tej

*) Wykonano w ramach tematu CPBR 10.17.IV.3.1.

syntetazy powodują różne substancje jak: in-sektywcydy, karcinogeny, sterydy oraz ołów. Na uwagę zasługuje fakt, że niektóre leki np. barbiturany, indukują syntezę mikrosomalnego hemoproteidu, jakim jest cytochrom P-450. Cytochrom ten wpływając na gen ALA-syntetazy, powoduje w końcowym efekcie zwiększenie aktywności tego enzymu (16).

Zaburzenia w syntezie hemu mogą być spowodowane blokiem syntetazy uroporfirynogenu (UROGEN-syntetaza), bądź też genetycznie uwarunkowanym blokiem kokarboksylazy, biorącej udział w tworzeniu czynnego biologicznie uroporfirynogenu III.

Zachwianie funkcji enzymów biorących udział w syntezie hemu prowadzi do stanu chorobowego zwanego porfirią, polegającego na nadmiernym gromadzeniu się w organizmie metabolitów prekursorowych hemu oraz ich wzmożone wydzielanie w moczu i w kale. Podstawowe objawy tego schorzenia opisane przede wszystkim u ludzi są związane z nadwrażliwością na promieniowanie ultrafioletowe, prowadzą do zmian martwiczych skóry. Występują także objawy toksycznego uszkodzenia tkanki nerwowej i stany kurczowe mięśni gładkich, zwłaszcza jelit i naczyń, którym towarzyszą bardzo silne bóle (10, 14, 17).

Ze względu na różnorodność form porfirii wprowadzono ich klasyfikację na 2 główne grupy: erytropoetyczną i wątrobowopochodną. W grupach tych wydzielono wiele podgrup (2, 9). Według Kostrzewskiej (10) profilaktyka porfirii polega na unikaniu czynników szkodliwych, indukujących aktywność ALA-syntetazy. Autorka bardzo szczegółowo przedstawia metody leczenia porfirii u ludzi. Harber i Bickers (5) jako czynniki zaostrzające porfirię wymieniają: etanol, estrogeny, chlorowane węglowodory oraz ołów.

Występowanie porfirii u zwierząt opisuje Kaneko (9). Jest spotykana u bydła, świń, a także u wiewiórek. Harber i Bickers (5) podają, że u bydła występuje ona jako recesywna, natomiast u świń jako dominująca, dziedzicząca się wada przemiany porfirynej.

Poszczególne przypadki porfirii u świń napotkano i opisano w Nowej Zelandii, a także w Danii (9). Nie stwierdzono nadwrażliwości na światło nawet u białych świń. Charakterystycznym objawem u tego gatunku jest czerwone zabarwienie zębów, dające zjawisko fluorescencji pod wpływem naswietlania promieniami ultrafioletowymi. Spotykane natomiast ciemne zabarwienie zębów nie dawało tego zjawiska, pomimo że roztworem HCl 0,5 mol/l wyekstrahowano z nich porfiry. Podobnie, chociaż w mniejszym stopniu barwnik może być odkładany w kościach. Analizy przeprowadzone u chorych zwierząt wykazały, że stanowi go głównie uroporfiryna I. Wątroba, śledziona, płuca, nerki, kości oraz zęby świni zawierają także inny, ciemny barwnik o niezidentyfikowanej budowie.

Dokonany przegląd piśmiennictwa wskazuje, że skażenie środowiska bytowania ludzi i zwierząt może wywoływać nasilenie się objawów schorzeń niekiedy uwarunkowanych dziedzicznie, które często przebiegały w formie subklinicznej. Takim schorzeniem jest porfiria. Występowanie jej w Polsce u ludzi nasuwa przypuszczenie, że może także występować u zwierząt nie zawsze potwierdzona badaniami laboratoryjnymi. Jej diagnoza opiera się bowiem w dużym stopniu na tych badaniach.

W obecnej pracy podjęto próby oznaczenia porfobilinogenu oraz porfiryń całkowitych w moczu świń klinicznie zdrowych, przyjmujących jednak z paszą w sposób ciągły małe ilości ołowiu. W przypadku wykrycia zmian zawartości tych metabolitów, postanowiono zwierzętom podać hormon estrogeny w celu ewentualnego pogłębienia zaburzeń i rozszerzenia zakresu badań.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u świń rasy polska biała zwisłoucha w przemysłowej fermie tuczu trzody chlewnej typu Agrokomples WRL (Niechcice woj. piotrkowskie). Objęto nimi 100 loch w wieku 1—2 lat o masie ciała od 100 do 200 kg, od których jednorazowo pobrano do badań krew i mocz. Lochy nie wykazywały żadnych odchyłań od prawidłowego stanu zdrowia, a w ich moczu badaniem rutynowym nie stwierdzono obecności składników patologicznych.

Sucha pasza PR w postaci granulatu, którą lochy otrzymywały zawierała w 1 kg 15,68 μmol ołowiu, natomiast nie stwierdzono obecności tego pierwiastka w wodzie pitnej. Oznaczenia ilości ołowiu dokonano w Zakładzie Analiz Fizykochemicznych SGGW—AR metodą absorpcji atomowej przy użyciu spektrofotometru f-my Parkin-Elmer 300.

We krwi loch oznaczono zawartość hemoglobiny rutynową metodą kolorymetryczną Drabkina. Całkowitą zawartość żelaza oraz zapasową zdolność wiązania żelaza (UIBC), tj. rezerwę transferyny określono w surowicy metodą podaną przez O'Malleya (13). Z otrzymanych danych wyliczono całkowitą zdolność wiązania żelaza (TIBC), tj. transferynę oraz % jej wysycenia.

Mocz do badań (oddawany spontanicznie) pobierano rano i po odwirowaniu natychmiast zamrażano. Badanie ilości porfobilinogenu i porfiryń wykonywano w dniu pobrania moczu.

Porfobilinogen oznaczano w oparciu o reakcję Ehrlicha z p-dwumetyloaminobenzaldehydem (15) używając odczynnika przygotowanego wg Rimingtona i wsp. Absorbancję próby badanej (A_b) oznaczano na aparacie Spekol 11 przy 555 nm wobec próby kontrolnej z wodą destylowaną (A_k). Do obliczenia zastosowano wzór uwzględniający molowy współczynnik absorbcji produktu reakcji z porfobilinogenem:

$$\text{Porfobilinogen} = (A_b - A_k) \cdot 391 \mu\text{mol/l}^{-1}$$

Porfiryńy całkowite oznaczano bezpośrednio metodą spektrofotometryczną (15) po dodaniu do 2 cm^3 moczu 0,1 cm^3 roztworu HCl o stężeniu 11,6 mol/l, mierząc absorbancję próby wobec wody dest. przy 380, 405 i 430 nm. Do wyliczenia zastosowano wzór:

$$\text{Porfiryńy całkowite} = 2 A_{405} - (A_{430} + A_{380}) \cdot 1,36 \mu\text{mol/l}$$

Ponadto w moczu oznaczono ilościowo zawartość kreatyniny metodą Folina-Wu z kwasem pikrynowym.

Po wykonaniu badań u 100 loch, wyodrębniono spośród nich 2 grupy liczące po 10 sztuk. Jedna z

nich objęła lochy, u których w moczu stwierdzono obecność porfiryn, a druga (grupa kontrolna) — lochy bez porfiryn w moczu. U wszystkich 20 loch powtórzono badania. W celu ewentualnego zaostrożenia porfirynurii podawano następnie lochom obydwu grup domięśniowo przez 5 kolejnych dni *Oestradiolum benzoicum* (Polfa) po 2 amp. (10 mg) na sztukę. W piątym dniu od zakończenia podawania hormonu wykonano badania ponownie.

Wszystkie wyniki opracowano statystycznie wliczając wartości średnie i odchylenie standardowe. Wyniki w poszczególnych grupach loch porównano testem t-Studenta w celu sprawdzenia istotności różnic.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań u loch przedstawiono w tab. 1. Wykazały one, że zarówno ilość hemoglobiny we krwi, jak również zawartość żelaza w surowicy oraz zdolność jego wiązania nie odbiegają w zasadzie od wartości wymienianych jako fizjologiczne u tego gatunku. Średnia ilość hemoglobiny jest jednak zbliżona do dolnej granicy wyników otrzymanych u świń przez innych autorów (6, 8, 11). Zawartość żelaza w surowicy loch jest nieznacznie wyższa od wyników otrzymanych w poprzedniej pracy (12), jak również wyższa od wyników Hofmanna i wsp. (7, 8). U świń o większej masie ciała (180—210 kilogramów) wymienieni autorzy stwierdzili bardzo niską zawartość żelaza w surowicy. Ich wyniki są prawie o połowę niższe w porównaniu z wynikami innych autorów.

Przeciętna zdolność wiązania żelaza jest u badanych loch nieznacznie niższa od podanej przez ww. autorów. Należy wziąć jednak pod uwagę, że ich badania dotyczyły tylko kilku lub kilkunastu zwierząt, przebywających w zupełnie odmiennych warunkach utrzymania. Jedynie badania Gołębiowskiego i wsp. (4) przeprowadzone były przed kilkoma laty u świń w warunkach tuczu przemysłowego, podczas 7 miesięcy wzrostu. Wartości żelaza całkowitego w ich surowicy były stosunkowo niskie.

Tab. 1. Wyniki badań przeprowadzonych jednorazowo we krwi i moczu 100 loch

Materiał	Składnik	$\bar{x} \pm s$
Krew	hemoglobina w mmol/dm ³	5,82 ± 1,28
Surowica	żelazo w $\mu\text{mol/dm}^3$	31,16 ± 6,41
	całkowita zdolność wiązania żelaza (TIBC) w $\mu\text{mol/dm}^3$	78,13 ± 11,95
	zapasowa zdolność wiązania żelaza (UIBC) w $\mu\text{mol/dm}^3$	46,96 ± 11,42
	% wysycenia transferyny	40,35 ± 8,55
Mocz	porfobilinogen w $\mu\text{mol/dm}^3$	4,48 ± 2,85
	porfiryny całkowite w nmol/dm ³ (wykryte u 13 sztuk)	14,80 ± 6,94

Na szczególną uwagę zasługują wyniki badań przeprowadzonych w moczu. U wszystkich loch wykryto w moczu porfobilinogen, w ilościach podobnych do występujących fizjologicznie w moczu ludzkim. Disler i wsp. (2) uważają, że oznaczanie tego metabolitu w moczu u ludzi przy użyciu aldehydowego odczynnika Ehrlicha wykazało w ostrych atakach różnych form porfirii wzrost jego wydzielania drogą nerek. Według Kostrzewskiej (10) wzmożone wydzielanie z moczem kwasu 5-aminolewulinowego oraz porfobilinogenu u pacjentów z ostrą porfirią wątrobową ulegało około 4-krotnemu zmniejszeniu na skutek leczenia wlewaniami 20% roztworu glukozy. Kaneko (9) podaje, że w stanach porfirii u świń nie stwierdzono u ogóle porfobilinogenu w moczu. Aczkolwiek u zwierząt porfirią została najdokładniej zbadana u bydła, nie znaleziono danych odnośnie występowania porfobilinogenu w moczu u tego gatunku, stwierdzono natomiast jego występowanie w moczu chorych kotów.

U 13% badanych loch wykryto w moczu niewielką ilość porfiryn. Richterich (15) podaje, że u człowieka porfiryny są wydzielane w ilości 0—50 $\mu\text{g}/24\text{ h}$, co w przeliczeniu na masę cz. protoporfiryny wynosi około 90 nmol/1,5 l mocz. Porfiryny występujące w moczu próbowano rozdzielać różnymi metodami (3). Chromatograficznie wykryto obecność przede wszystkim kopro- i uroporfiryny. Według Ostrowskiego i wsp. (14) ich stosunek ilościowy u osób zdrowych kształtuje się w granicach 2—6,5. W różnych formach porfirii ulega on znacznym przesunięciom. Według danych tychże autorów w moczu osób zdrowych wartości porfiryn całkowitych są znacznie wyższe od podanych przez Richtericha i wynoszą 26—120 $\mu\text{g}/24\text{ h}$. Wartości stwierdzone natomiast w różnych formach porfirii cechuje ogromny rozrzut w granicach od 30 do 9268 $\mu\text{g}/24\text{ h}$.

Na podstawie dokonanego przeglądu piśmiennictwa Kaneko (9) podaje, że podczas porfirii u świń wykryto 10—100 μg uroporfiryn oraz 50 μg koproporfiryn w dobowej ilości moczu.

W celu wyjaśnienia czy obecność porfiryn wykryta w moczu niektórych loch ma związek z ewentualną utajoną formą porfirii, postanowiono u tych sztuk oraz u kontrolnych zastosować estradiol jako czynnik zaostrażający porfirię (5). Wyniki badań u tych zwierząt przedstawiono w tab. 2.

Po podaniu estradiolu w obydwu grupach loch notuje się istotne podwyższenie poziomu hemoglobiny, co wskazuje na silne działanie hormonów w tym kierunku zważywszy, że podwyższenie to nastąpiło w ciągu zaledwie 10 dni.

W moczu wszystkich loch obserwuje się nieznaczne zwiększenie wydzielania porfobilinogenu, natomiast zaprzestanie wydzielania porfiryn. Przemawia to raczej za ich fizjologicznym występowaniem w moczu u niektórych loch,

Tab. 2. Wyniki badań we krwi i moczu loch grupy doświadczalnej (porfiryny+ w moczu) i kontrolnej (porfiryny — w moczu) przed i po podaniu estradiolu ($\bar{x} \pm s$)

Materiał	Składnik	Grupa: porfiryny+ w moczu estradiol		Grupa: porfiryny— w moczu estradiol	
Krew	hemoglobina w mmol/dm ³	6,00 ± 1,00 *	9,27 ± 0,74 *	5,60 ± 0,71 °	8,29 ± 2,02 °
	porfobilinogen w μmol/dm ³	2,33 ± 1,47	3,38 ± 1,76	3,63 ± 1,64	3,85 ± 2,49
Mocz	porfiryny całkowite w nmol/dm ³	14,97 ± 6,66	0	0	0
	kreatynina w mmol/dm ³	4,01 ± 1,97	4,15 ± 2,61	4,30 ± 2,84	4,44 ± 2,02

Objaśnienie: * lub ° różnica istotna przy $p \leq 0,05$.

aniżeli wydzieleniem pod wpływem czynnika toksycznego.

Ponieważ nie mierzono dobowej ilości krwi moczu loch, oznaczono w nim zawartość kreatyniny. Metabolit ten bowiem, chociaż zastrzeżeniami (1) bywa niekiedy wykorzystywany, zwłaszcza u świni, jako wykładnik stężenia składników moczu. Wyniki tego oznaczenia zamieszczono w tab. 2. Przeliczenie wyników porfobilinogenu i porfiryn na 1 mmol kreatyniny nie wpłynęło na wielkość różnic między średnimi wynikami w grupach, lecz na wzrost odchylenia standardowego. Wskazuje to na brak proporcji między ilością wydzielanego porfobilinogenu i porfiryn z moczem a ilością wydzielanej kreatyniny. Z tego powodu w tabeli podano jedynie wartości bezwzględne.

Podsumowując wyniki badań można stwierdzić, że w moczu loch występuje porfobilinogen jako stały jego składnik. U 13% loch wykryto w moczu niewielką ilość porfiryn. Podawanie estradiolu spowodowało istotny wzrost hemoglobiny we krwi i zahamowanie wydzielenia z moczem porfiryn, co wskazuje, że obecność ich w moczu nie była spowodowana czynnikiem toksycznym.

Piśmiennictwo

- Bate L. A., Hacker R. R.: Canad. J. anim. Sci. 61, 913, 1981.
- Disler P. B., Blekkenhorst G. H., Eales L.: Int. J. Derm. 23, 2, 1984.
- Eriksen L.: Scand. J. clin. lab. Invest. 5, 155, 1953.
- Gołębiowski S., Bratkowski A., Smolarz M.: Medycyna Wet. 34, 483, 1978.
- Harber L. C., Bickers D. R.: J. invest. Derm. 82, 3, 1984.
- Harris W. H.: Can. Vet. J. 15, 282, 1974.
- Hofmann U., Kolb E., Leo M., Gründel G., Schineff Ch., Schmidt U.: Arch. exp. VetMed. 34, 617, 1980.
- Hofmann U., Kolb E., Leo M., Gründel G., Schineff Ch., Schmidt U.: Arch. exp. VetMed. 34, 943, 1980.
- Kaneko J. J.: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Academic Press, N. Y., London, Toronto, Sydney, San Francisco, 1980, 164.
- Kostrzewska E.: Pol. Tyg. lek. 39, 781, 1984.
- Kupski A., Kolb E., Böhme A., Gründel G., Schineff C.: Mh. VetMed. 38, 452, 1983.
- Malinowska A.: Pol. Arch. wet. 27, z. 1, w druku.
- O'Malley J. A., Hassan A., Schiley J., Traynor H.: Clin. Chem. 16, 92, 1970.
- Ostrowski J., Kosecki P., Martyńska M., Milewski B.: Scand. J. Gastroenterology 19, 862, 1984.
- Richterich R.: Chemia Kliniczna, PZWL Warszawa 1971, 375 i 383.
- Szymczyk T.: Biochemia cz. II, Materiały seminaryjne, Wyd. AM w Warszawie, 1983, 196.
- Zawłrska B., Kwiatkowska W., Nowojska A.: Pol. Tyg. lek. 40, 97, 1985.

Adres autora: prof. dr habil. Aleksandra Malinowska, ul. Malawskiego 1 m 31, 02-641 Warszawa

Малиновская А., Домброваская Р., Остромецкий Я. — Исследования некоторых метаболитов биосинтеза гема, появляющихся в крови и моче свиноматок в условиях промышленного выращивания

У 100 клинических здоровых свиноматок в условиях промышленной фермы провели однократно исследования крови и мочи. В крови определили содержание гемоглобина, а в сыворотке — полное железо, а также полную и резервную способность связывания железа, а также % насыщения им трансферина. В моче же определили содержание профобилиногена и полных порфиринов. Полученные результаты не отличались от величин, считающихся физиологическими. У всех животных в моче находился порфобилиноген.

У 13% свиноматок отметили в моче небольшое количество порфиринов. У этих животных и 10 контрольных применено экстрадиол как фактор, заостряющий порфирию. По окончании его ввода в обеих группах свиноматок отмечали существенный рост уровня гемоглобина и заторможение выделения с мочей порфиринов. Это показывает, что их присутствие в моче не было вызвано появлением небольших количеств свинца в корме.

Malinowska A., Dąbrowska R., Ostromecki J. — Studies on some metabolites of haem biosynthesis present in blood and urea of sows in an industrialized farm

In 100 clinically normal sows in an industrialized farm, urea and blood were analyzed. The content of blood haemoglobin, a total serum Fe, total and wrestle ability of iron binding, percent of transferrin saturation with iron, the content of porfobilinogen and a total porfirin in urea were examined. The measured parameters were in physiological limits, and porfobilinogen was detected in urea of all examined sows. In urea of 13% of animals a low content of porfirin was detected. In these animals and in 10 control sows estradiol to aggravate porfiria was applied. After estradiol injection in both groups of sows significantly increased the level of haemoglobin and excretion of porfirins with urea ceased. These results point that the presence of porfirins in urea was not caused by a pollution of fodder with small amounts of lead.