

# Wskaźniki biochemiczne krwi gęsi z amyloidozą

ANDRZEJ GAWĘŁ, BOGUSŁAW KOTOŃSKI\*, MICHAŁ MAZURKIEWICZ,  
JOLANTA CHOLEWA

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR,  
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

\*Katedra Biochemii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Gawęł A., Kotoński B., Mazurkiewicz M., Cholewa J.  
**Blood biochemical indices in geese with amyloidosis**

## Summary

Studies were performed on the reproduction of 4-year-old geese of the White Italian breed and covered 10 randomly selected birds diagnosed with amyloidosis and 10 healthy geese of the same age and from similar rearing conditions. The scope of studies involved the enzyme activity in the serum of the geese, pertaining to: alanine aminotransferase (GTP), aspartate aminotransferase (GOT), lipase, alpha-amylase, gamma glutamyltransferase (GTP) and alkaline phosphatase. The following were also determined: blood glucose and creatinine, uric acid, total protein, albumins, bilirubin, cholesterol, inorganic phosphorous and Ca, Na, K and Cl ions in the serum.

The authors' findings showed a significant increase in acidic activity of alpha-glucosidase, gamma glutamyltransferase and a lower decrease in case of aspartate aminotransferase. An increase in glucose, bilirubin, uric acid and potassium ions was also recorded.

**Keywords:** geese, amyloidosis, blood biochemical indices

Amyloidozę opisano u szeregu gatunków ptaków, zarówno użytkowanych gospodarczo, jak też utrzymywanych w ogrodach zoologicznych. Natomiast nie wydaje się ona być istotnym problemem u ptaków wolno żyjących (7). Straty w produkcji drobiarskiej na tle amyloidozy mogą być znaczne. W chowie intensywnym kaczek wyrażały się one w zależności od wieku ptaków około 18-26% spadkiem produkcji nieśnej, obniżeniem o 6-12% wskaźnika zapłodnienia, 12-17% wskaźnika wylęgowego oraz podwyższeniem do 1-2% miesięcznej śmiertelności (8).

Podobnie w chowie intensywnym gęsi z chwilą wystąpienia schorzenia, padnięcia w ujęciu tygodniowym wzrosły do 30-35 ptaków w porównaniu do 0-1 szt. w okresie poprzedzającym chorobę (3). Obraz kliniczny amyloidozy jest mało specyficzny. U kaczek dotkniętych tym schorzeniem wykazano obrzęk kończyn oraz powiększenie brzucha (ascites) jako efekt zaburzeń w krążeniu na tle uszkodzenia wątroby. Przy tym należy podkreślić, że zakres i nasilenie zmian klinicznych zależą w głównej mierze od lokalizacji złogów amyloidu oraz stopnia uszkodzenia objętego tym procesem narządu. Diagnostyka amyloidozy oparta jest głównie na badaniach pośmiertnych (sekcyjne i histopatologiczne).

Celem pracy była analiza zachowania się podstawowych wskaźników biochemicznych krwi u gęsi z

amyloidozą, w aspekcie wykorzystania ich w przyżywczej diagnostyce laboratoryjnej choroby.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono na gęsiach stada reprodukcyjnego rasy biała włoska w wieku 4 lat z rozpoznaną histopatologicznie amyloidozą. Do badań wybrano losowo z chorożego stada 10 ptaków, zaś grupę kontrolną stanowiło 10 gęsi zdrowych również w wieku 4 lat pochodzących z innej fermi o zbliżonych warunkach chowu. Próbkę krwi pobierano z żyły skrzydłowej, w tym samym czasie u ptaków z obydwu grup. Po oddzieleniu elementów morfotycznych krwi surowicę przechowywano w temp. -22°C.

Zakres badań obejmował określenie aktywności w surowicy krwi gęsi enzymów: aminotransferazy alaninowej (GPT), aminotransferazy asparaginowej (GOT), lipazy, alfa-amylazy, gamma-glutamylotransferazy (GTP), alfa-glukozydazy oraz fosfatazy zasadowej. Ponadto oznaczano zawartość we krwi glukozy, a w surowicy – kreatyniny, kwasu moczowego, białka całkowitego, albumin, bilirubiny, cholesterolu, fosforu nieorganicznego oraz jonów Ca, Na, K i Cl.

Aktywność enzymów – GPT, GOT, lipazy i GTP określano w analizatorze Kodak Ectachem DT 60 przy użyciu membran testowych Vitros DT slides i wyrażono w jednostkach międzynarodowych na dm<sup>3</sup>. Aktywność alfa-glukozydazy oznaczano metodą Dahlquista (2) wobec maltozy w pH 4,7 i 6,6, tzn. optymalnych dla kwaśnej i obojętnej

alfa-glukozydazy. Mieszanina inkubacyjna zawierała 10  $\mu$ l surowicy, 90  $\mu$ l buforu weronalowo-octanowego o odpowiednim pH i 20  $\mu$ l 10% roztworu maltozy. Inkubację prowadzono w temp. 37°C przez 30 min. Reakcję przerywano dodatkiem 280  $\mu$ l 4% roztworu TCA (kwasu trichlorooctowego), wytrącone białko odwirowywano. Uwolnioną glukozę oznaczano kolorymetrycznie przy pomocy glukooksydazy i peroksydazy, stosując zestaw Glukoza PAP firmy Analco. Aktywność enzymu podano w milijednostkach na  $\text{cm}^3$  surowicy zdefiniowanych jako ilość nanomoli glukozy uwolnionej w czasie 1 min. inkubacji. Podobnie oznaczano glukozę we krwi. Z kolei aktywność alfa-amylazy oznaczano zmodyfikowaną metodą jodową z odczynnikami Krisman (6), wystandardyzowaną w odniesieniu do ilości rozłożonych wiązań alfa-glikozydowych w skrobi. Jednostki zdefiniowano jako ilość  $\mu$ moli rozłożonych wiązań alfa-glikozydowych w czasie 1 min. inkubacji surowicy ze skrobią w warunkach metody. Z uwagi na znaczną aktywność alfa-amylazy w surowicy krwi ptaków wodnych (5), surowicę do oznaczeń aktywności tego enzymu rozcieńczano 30-krotnie.

Zawartość w surowicy kreatyniny, kwasu moczowego, białka całkowitego, albumin, bilirubiny, cholesterolu, fosforanów i jonów wapnia oznaczano w analizatorze Kodak Ectachem DT 60 przy użyciu membran testowych Vitros DT slides. Poziom jonów Na, K i Cl określano w analizatorze Chiron Diagnostics 644. Białko całkowite podano w g na  $\text{dm}^3$  surowicy, a związki drobnocząsteczkowe odpowiednio w mikro i milimolach na  $\text{dm}^3$  surowicy.

Uzyskane w badaniach dane liczbowo opracowano statystycznie metodą analizy wariancji według programu STATGRAPHICS 3.0. Istotność różnic pomiędzy średnimi oceniano przy poziomie ufności  $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ .

## Wyniki i omówienie

W tab. 1 przedstawiono aktywność wybranych enzymów w surowicy krwi gęsi z amyloidozą i ptaków grupy kontrolnej. Aktywność kwaśnej alfa-glukozydazy (pH = 4,7) wynosiła u ptaków zdrowych średnio 128,8  $\text{mU}/\text{cm}^3$  surowicy, natomiast obojętnej alfa-glukozydazy (pH 6,6) – 86,8  $\text{mU}/\text{cm}^3$ . W surowicy gęsi z amyloidozą aktywność obydwu alfa-glukozydaz wynosiła odpowiednio: kwaśnej – 153,6  $\text{mU}/\text{cm}^3$  surowicy i obojętnej – 70,2  $\text{mU}/\text{cm}^3$ . Wzrost

Tab. 1. Aktywność wybranych enzymów w surowicy krwi gęsi z amyloidozą ( $x \pm s$ ,  $n = 9$ )

Enzymy	Grupa kontrolna		Gęsi z amyloidozą	
Kwaśna $\alpha$ -glukozydaza ( $\text{mU}/\text{cm}^3$ )	128,8 <sup>A</sup>	$\pm 20,94$	153,6 <sup>B</sup>	$\pm 27,60$
Obojętne $\alpha$ -glukozydaza ( $\text{mU}/\text{cm}^3$ )	86,8 <sup>a</sup>	$\pm 13,05$	70,2 <sup>b</sup>	$\pm 15,64$
$\alpha$ -amylaza ( $\text{U}/\text{cm}^3$ )	116,4	$\pm 17,0$	121,3	$\pm 20,76$
GOT ( $\text{U}/\text{dm}^3$ )	14,42	$\pm 2,19$	17,21	$\pm 1,70$
GPT ( $\text{U}/\text{dm}^3$ )	14,92	$\pm 1,52$	13,90	$\pm 1,17$
GTP ( $\text{U}/\text{dm}^3$ )	1,38 <sup>A</sup>	$\pm 1,02$	7,63 <sup>B</sup>	$\pm 0,79$
Lipaza ( $\text{U}/\text{dm}^3$ )	< 10	$\pm 2,07$	12,00	$\pm 1,60$
FA (U/L)	546,00	$\pm 178,87$	590,40	$\pm 138,55$

Objaśnienia: a, b – różnica istotna pomiędzy średnimi przy  $p \leq 0,05$ ; A, B – przy  $p \leq 0,01$

Tab. 2. Poziom podstawowych wskaźników biochemicznych krwi gęsi z amyloidozą ( $x \pm s$ ,  $n = 9$ )

Wskaźniki biochemiczne	Grupa kontrolna		Gęsi z amyloidozą	
Glukoza ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	9,36 <sup>A</sup>	$\pm 1,38$	12,92 <sup>B</sup>	$\pm 0,58$
Białko całkowite ( $\text{g}/\text{dm}^3$ )	51,00	$\pm 1,94$	49,75	$\pm 1,24$
Albuminy ( $\text{g}/\text{dm}^3$ )	27,67	$\pm 1,60$	28,28	$\pm 1,24$
Kreatynina ( $\mu\text{m}/\text{dm}^3$ )	24,61	$\pm 4,19$	24,55	$\pm 3,25$
Kwas moczowy ( $\mu\text{m}/\text{dm}^3$ )	251,83 <sup>A</sup>	$\pm 76,62$	573,20 <sup>B</sup>	$\pm 59,35$
Bilirubina całkowita ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	2,66 <sup>a</sup>	$\pm 0,63$	3,45 <sup>b</sup>	$\pm 0,49$
Bilirubina bezpieczna ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	0,64 <sup>A</sup>	$\pm 0,32$	1,15 <sup>B</sup>	$\pm 0,24$
Bilirubina pośrednia ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	2,03 <sup>A</sup>	$\pm 0,62$	2,31 <sup>B</sup>	$\pm 0,48$
Cholesterol ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	5,51 <sup>A</sup>	$\pm 0,45$	5,87 <sup>B</sup>	$\pm 0,35$
Na <sup>+</sup> ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	158,33	$\pm 1,74$	161,00	$\pm 1,35$
K <sup>+</sup> ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	2,32 <sup>A</sup>	$\pm 0,16$	3,03 <sup>B</sup>	$\pm 0,13$
Ca <sup>2+</sup> ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	3,55	$\pm 0,39$	3,24	$\pm 0,30$
CL <sup>-</sup> ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	111,00	$\pm 1,08$	111,50	$\pm 0,84$
P ( $\text{mM}/\text{dm}^3$ )	1,68	$\pm 0,18$	1,86	$\pm 0,14$

Objaśnienia: jak w tab. 1.

aktywności kwaśnej alfa-glukozydazy był statystycznie istotny przy  $p \leq 0,01$ .

Aktywność alfa-amylazy oznaczano dwoma metodami: jedną w automatycznym analizatorze, która ze względu na wysoką aktywność enzymu nie dała dokładnego wyniku (powyżej zdolności rozdzielczej) i drugą-analityczną, która nie wykazała istotnych zmian w aktywności pomiędzy ptakami chorymi i zdrowymi.

mi. U ptaków zdrowych aktywność alfa-amylazy we krwi wynosiła 116,4 U/cm<sup>3</sup> surowicy, a u gęsi z amyloidozą – 121,3 U/cm<sup>3</sup> surowicy.

Rozmieszczenie w komórkach różnych narządów, w tym wątroby, obydwu alfa-glukozydaz jest odmienne, co stwierdzono np. w wątrobie świni (10). Kwaśna alfa-glukozydaza jest enzymem lizosomalnym, którego rola polega na udziale w rozkładzie glikogenu. Niedobory tego enzymu są przyczyną II typu glikogenezy, określanej jako Choroba Pompe'go (1, 4). Z kolei obojętna alfa-glukozydaza jest enzymem cytoplazmatycznym, o nie do końca wyjaśnionej roli w komórce. Stwierdzony wzrost aktywności gamma-glutamylotransferazy, kwaśnej alfa-glukozydazy i w mniejszym stopniu aminotransferazy asparaginianowej wskazuje na możliwość zmian w przepuszczalności błon komórkowych zmienionych chorobowo narządów lub na uszkodzenie samych komórek narządów, w których wystąpiło odkładanie się złogów amyloidu. Wzrost aktywności glukozydazowej koreluje ze stwierdzonym zwiększonym istotnie poziomem glukozy we krwi do 12,92 mmoli/dm<sup>3</sup>, podczas gdy w grupie gęsi zdrowych wynosił on 9,36 mmoli/dm<sup>3</sup>. Te trzy enzymy, zwłaszcza kwaśna alfa-glukozydaza i aminotransferaza, są obecne w komórkach większości narządów, a więc również w tych gdzie zaobserwowano odkładanie się złogów amyloidu w ścianach naczyń krwionośnych i okołonaczyniowych przestrzeniach otaczających włósniczki oraz w samym mięszu wątroby i śledziony, a w nerkach dodatkowo w kłębuszkach, torebce Bowmana i błonach podstawnych kanalików, co odbija się na funkcjach czynnościowych tych narządów (3). Potwierdza to również stwierdzony istotny wzrost stężenia bilirubiny, kwasu moczowego i jonów potasowych w surowicy ptaków chorych.

Kierunek obserwowanych zmian w zakresie badanych wskaźników krwi u gęsi jest w zasadzie podob-

ny do opisanych wcześniej zmian we krwi kaczek chorych na amyloidozę (9). Różnice między badanymi gatunkami ptaków dotyczyły głównie aktywności aminotransferazy asparaginianowej (GOT) – enzymu szeroko rozpowszechnionego w tkankach. Mogą one wynikać z różnego stopnia intensywności zmian patologicznych, które objęły u badanych gęsi większą ilość narządów (wątroba, śledziona, nerki). Z przeprowadzonych badań wynika, że charakter zmian badanych wskaźników krwi nie jest specyficzny wyłącznie dla amyloidozy. Świadczy on natomiast o uszkodzeniu funkcji narządów mięszowych, głównie wątroby i śledziony co potwierdziły badania anatomopatologiczne i mikroskopowe (3).

### Piśmiennictwo

1. Czarniecki C. M., Salam A., Caldwell R., Jankus E. F.: Activity of alpha 1,4 glucosidase in furazolidone-induced glycogenosis. *Poultry Sci.* 1978, 57, 301-303.
2. Dahlquist A.: Determination of maltase and isomaltase activities with a glucoseoxidase reagent. *Biochem. J.* 1961, 80, 547-551.
3. Gawel A., Madej J. A., Mazurkiewicz M., Stefaniak T., Dzi-mira S.: Amyloidoza u gęsi. *Medycyna Wet.* (w druku).
4. Hers H. G.: Alpha-glucosidase deficiency in generalized glycogen – storage disease (Pompe's disease). *Biochem. J.* 1963, 86, 11-16.
5. Kotoński B., Wilczek J.: Zachowanie się aktywności endo i egzoglukozydaz w surowicy krwi ptaków hodowlanych. *Materiały XXXV Zjazdu P. T. Bioch., Olsztyn 1999*, s. 211.
6. Krisman C. R.: A method for the colorimetric estimation of glycogen with iodine. *Anal. Biochem.* 1962, 4, 17-21.
7. Landman W. J. M., Gruys E., Gielkens A. L. J.: Avian amyloidosis. *Avian Pathol.* 1998, 27, 437-449.
8. Madej J. A., Mazurkiewicz M., Kuryszko J., Trziszka T.: Patomorfologia uogólnionej amyloidozy u kaczek rasy Pekin. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 690-693.
9. Malkinson M., Pitt M. A., Dison M., Bogin E.: A biochemical investigation of amyloidosis in the duck. *Avian Pathol.* 1980, 9, 201-205.
10. Matsui H., Chiba S.: Purification and some properties of pig liver acid alpha-glucosidase. *Agric. Biol. Chem.* 1983, 47, 707-713.

Adres autora: dr Andrzej Gawel, pl. Grunwaldzki 45, 50-305 Wrocław; e-mail: gawel@ozi.ar.wroc.pl

**DOBSON P., TINEMBART O., FISCH R. D., JUNQUERA P.: Skuteczność nitenpyramu jako leku systemowego niszczącego dorosłe pchły u psów i kotów. (Efficacy of nitenpyram as a systematic flea adulticide in dogs and cats).** *Vet. Rec.* 147, 709-713, 2001 (25)

Nitenpyram, związek z grupy neonikotynoidów, okazał się bardzo skuteczny w niszczeniu dorosłych pcheł w testach sztucznego karmienia krwią bydła. Badania nad skutecznością tabletek zawierających ten związek przeprowadzono na psach o masie 1-54 kg oraz na kotach zarażonych pchłami na drodze naturalnej. Dawka leku dla kota wynosiła 11,4 mg, dla psa o masie 1-11 kg 11,4 mg, o masie od 11,1 do 57,0 kg 57 mg. Po podaniu leku zwierzęta umieszczono w klatkach do zbierania pcheł i obserwowano po 30, 60, 90 i 120 min., a następnie co godzinę przez 6 godzin. Ogółem lek zastosowano u 143 zwierząt. *Placebo* podano 68 zwierzętom. Pierwsze dorosłe pchły zaczęły padać w okresie od 30 min. do 5 godz. Po 2 godz. pchły spadły z 81% zwierząt. Po 6 godz. skuteczność leczenia wynosiła 96,7% u psów i 95,2% u kotów, przy czym 85,9% pcheł znalaziono poza organizmem zwierząt. W grupie kontrolnej poza organizmem stwierdzono tylko 1,8% pcheł.

G.

**ECKERSALL P. D., YOUNG F. J., MCCOMB C., HOGARTH C. J., SAFI S., WEBER A., MC DONALD T., NOLAN A. M., FITZPATRICK J. L.: Białka ostrej fazy w surowicy i w mleku krów mlecznych z klinicznym zapaleniem gruczołu mlekowego. (Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis).** *Vet. Rec.* 148, 35-41, 2001 (2)

Zapalenie gruczołu mlekowego należy do najczęstszych chorób bydła mlecznego. Wpływając negatywnie na ilość i jakość mleka przyczynia się ono do obniżenia efektów ekonomicznych produkcji mlecznej. Wczesna diagnostyka stanów zapalnych wymienia odgrywa istotne znaczenie w zwalczaniu infekcji. Stwierdzono, że poziom haptoglobiny i amyloidu A jest znacznie wyższy zarówno w surowicy, jak i w mleku krów z zapaleniem gruczołu mlekowego. Czułość metody oznaczania poziomu haptoglobiny w mleku wynosiła 82%, a swoistość 94%, natomiast dla surowicy wartości te wynosiły odpowiednio 86% i 100%. W przypadku amyloidu A oznaczanego w surowicy czułość wynosiła 83%, swoistość 90%, a dla mleka odpowiednio 93% i 100%. Dla a1-kwaśnej glikoproteiny czułość wynosiła 62% przy swoistości 91%.

G.