

Wpływ melatoniny na stan zdrowia oraz jakość skór i okrywy włosowej norek

AGNIESZKA SROKA, TADEUSZ ROTKIEWICZ*, ANTONI KOPCZEWSKI,
IWONA OTROCKA-DOMAGAŁA*

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk

*Zespół Anatomii Patologicznej Katedry Farmakologii i Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczipowskiego 13, 10-918 Olsztyn

Sroka A., Rotkiewicz T., Kopczewski A., Otrocka-Domagała I.

Effect of melatonin treatment on the general state of health and fur quality of minks

Summary

The aim of the study was to determine the effect of melatonin treatment on the general state of health, skins, and fur quality of minks. The research was conducted on a farm consisting of 2500 minks of the basic pack and 12000 young minks.

The experimental group contained 300 minks of the basic pack. In the middle of June an implant of synthetic melatonin (6 mg of Melakryl, produced in Russia) was inserted in the scapular bone region in each of those minks. The remainder of the minks of the basic pack represented the control group. Minks were fed with raw fish and poultry offal, cereal groats, meat-and-bone meal or fishmeal, vitamin and mineral supplements and plant oils. The diet guaranteed an average metabolic energy of about 1600 Kcal. The experimental minks were slaughtered in September, but the minks from control group in December. From 10 animals selected at random from each group blood samples were taken for hematology and biochemistry tests. From 5 minks from each group the visceral organs (liver, spleen, kidney) and brain samples were collected for histopathological examination. It was stated that minks with an implant of melatonin gained greater body weight and the fur maturation period was shorter by over two months, but the skins were thicker with sparser hair growth. Laboratory test results proved the favorable effect of melatonin treatment on liver enzymes, urea and creatinine level, as well as on reducing intensity of morphological changes of the liver, kidneys and spleen.

Keywords: minks, melatonin

Melatonina jest hormonem, pochodnym aminokwasu – tryptofanu, wydzielanym głównie w szyszynce, ale może być również syntetyzowana w wielu innych organach i tkankach, jak: siatkówka, soczewka, przewód pokarmowy, komórki szpiku kostnego, skóra (18, 19, 24, 25). Sekrecja melatoniny jest rytmiczna z maksimum wydzielania w godzinach nocnych, niezależnie czy zwierzę jest aktywne w dzień, czy w nocy, stąd uważana jest za endokrynnego „markera nocy” (11, 15, 22, 23, 25). U ssaków melatonina uczestniczy w regulacji procesów zachodzących w rytmie dobowym lub rocznym. Zależy to w dużej mierze od długości dnia świetlnego i dzięki temu zwierzęta żyją w rytmie sezonowym (2, 4, 11). Sezonowa adaptacja zwierząt kręgowych do zmian środowiskowych powoduje zmiany w cyklu reprodukcyjnym, żywieniu, kolorze i jakości futra, a nawet w przygotowaniu do hibernacji (5, 6, 8, 9, 12, 17, 18). U ludzi melatonina bierze udział w regulacji snu i dobowych zmianach aktywności psychomotorycznej, a także moduluje działanie układu immunologicznego, reguluje procesy dojrzewania płciowego i niektóre funkcje układu krąże-

nia, wspomaga leczenie niektórych chorób nowotworowych, choroby Alzheimera, Parkinsona, cukrzycy (1-4, 18, 20-22). Chroni organizm przed szkodliwym działaniem wolnych rodników (10, 18, 19). Melatonina została również wykryta u zwierząt bezkręgowych oraz roślin i podobnie jak u ssaków wykazuje rytm dobowy. Prawdopodobnie chroni zwierzęta niższe i rośliny przed niekorzystnymi czynnikami środowiska, takimi jak skrajne zimno, ciepło, promienie UV, itp. (18, 19, 23). U niższych kręgowców szyszynka pełnił rolę organu fotosensorycznego, zaś u ssaków rolę organu fotoendokrynologicznego, natomiast ptaki uważa się za środkowy punkt na drodze ewolucji szyszynki (14).

W ostatnich latach prowadzone są badania dotyczące wykorzystania syntetycznej melatoniny w produkcji zwierzęcej i weterynarii, np. w przyspieszeniu tempa wzrostu młodych zwierząt lub w skróceniu okresu dojrzałości okrywy włosowej u lisów i norek (5, 6, 8, 9, 11-13, 24).

Celem badań było określenie wpływu melatoniny na stan zdrowia oraz jakość skór i okrywy włosowej u norek.

Material i metody

Zwierzęta. Badania przeprowadzono w fermie nerek, której obsadę stanowiło ok. 2500 zwierząt stada podstawowego oraz ok. 12 000 młodych norcząt. Norki były różnych odmian barwnych, z przewagą umaszczenia brązowoczarne, które w okresie zimy (styczeń) oraz lata (lipiec) zostały zaszczepione profilaktycznie przeciw botulizmowi, wirusowemu zapaleniu jelit i krwotocznemu zapaleniu płuc oraz nosówce. U pojedynczych nerek dorosłych od kilku lat w okresie lata notowano objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne charakterystyczne dla choroby aleuckiej. Do doświadczenia użyto 300 nerek, głównie samic stada podstawowego, o dobrej kondycji, w wieku 2 lat, którym w połowie czerwca w okolicy łopatki wszczepiono podskórną implant syntetycznej melatoniny pod nazwą Melakryl, produkcji rosyjskiej firmy Inpolimed AO. Implantowane granulki są otoczone wolno rozpuszczającą się polimerową osłonką i zawierają 6 mg czynnej melatoniny. Większość nerek użytych do doświadczenia, z różnych przyczyn, jak brak pokrycia, poronienia, padnięcia okołoporodowe osesków, nie miała potomstwa. Pozostałe norki stada podstawowego stanowiły grupę kontrolną. Norki z wszczepioną melatoniną poddano ubojowi w drugiej połowie września, zaś kontrolne w pierwszych dniach grudnia, gdyż w wymienionych okresach osiągnęły kondycję ubojową, związaną z jakością okrywy włosowej.

Żywnienie. Norki były żywione do woli karmą przygotowywaną *ex tempore*, która składała się z ok. 45% ryb i ich odpadów (dorsz, flądra, śledź, szprot), 40% odpadów drobiowych (głowy, kończyny, jelita, narządy wewnętrzne), 15% śruty roślinnej (jęczmień, kukurydza, pszenica), 1-2% mączki mięsno-kostnej lub rybnej, 1% dodatków mineralno-witaminowych (GuyoFox) oraz ok. 0,5% oleju roślinnego. Odpady drobiowe w lecie były konserwowane piro-siarczanem sodu w ilości 0,2-0,3% masy karmy gotowanej oraz przeciwutleniaczem Rendox w dawce 300 g/t karmy. Skład karmy zapewniał udział energii metabolicznej z białka w granicach 35-40%, tłuszczu 40-45% oraz węglowodanów 12-15%, co odpowiadało około 1600 Kcal/kg karmy, przy zwiększonym udziale energii z tłuszczów w okresie jesiennym.

Badanie kliniczne, laboratoryjne i anatomopatologiczne. Norki w trakcie doświadczenia były obserwowane, a w uzasadnionych przypadkach pojedyncze zwierzęta były szczegółowo badane. W czasie uboju nerek doświadczalnych w dniu 23 września i kontrolnych 5 grudnia dokonano oceny jakości skór i okrywy włosowej, szczegółowych oględzin kondycji zwierząt oraz określono ich masę ciała. Od 10 losowo wybranych nerek doświadczalnych oraz kontrolnych pobrano krew do badania hematologicznego i biochemicznego, określając profil wątrobowy (AspAT, ALAT, AP) i nerkowy (mocznik, kreatynina). Ponadto od 5 nerek z każdej grupy pobrano wycinki wątroby, śledziony, nerki oraz mózgu do badania histopatologicznego. Wycinki utrwalano w 10% zobojętnionej formalinie i zatapiały w bloczki parafinowe, a uzyskane skrawki mikrotomowo barwiono hematoksyliną i eozyną.

Wyniki i omówienie

W okresie trwania doświadczenia miały miejsce pojedyncze padnięcia nerek w grupie kontrolnej, a stwierdzone objawy chorobowe i zmiany anatomopatologiczne wskazywały na chorobę aleucką. Norki z wszczepionym implantem melatoniny przez cały okres ponad 3-miesięcznej obserwacji miały lepszy apetyt niż kontrolne. Średnia masa ciała jednej norki po oskórowaniu w grupie doświadczalnej wynosiła 974 g, a kontrolnej 794 g – różnica 180 g (18,48%). W miejscu wszczepienia implantów melatoniny nie stwierdzano widocznej reakcji miejscowej tkanek w postaci zgrubień tkanki podskórnej i skóry, nacieków zapalnych lub odbarwienia włosa. Okres linienia, tj. zmian okrywy letniej na zimową w grupie doświadczalnej przebiegał znacznie szybciej, z ponad 2-miesięcznym przyspieszeniem i był mniej zauważalny niż w grupie nerek kontrolnych. Jakość futra w obu grupach była podobna, tj. nie odnotowano różnicy w dojrzałości skór i w ich ocenie jakości kwalifikacyjnej w czasie sprzedaży, chociaż przy szczegółowych oględzinach skóry nerek doświadczalnych były one znacznie większych rozmiarów, ale cieńsze, zaś włosy odznaczały się dobrą sprężystością i połyskiem, natomiast okrywa włosowa jako całość była rzadsza. Szczegółowe badania histopatologiczne skóry i jej wytworów są przedmiotem dalszych badań.

Własne obserwacje potwierdzają wyniki badań Barabasza i wsp. (5, 6), że melatonina syntetyczna wprowadzona podskórną w formie implantów powoduje u nerek większe przyrosty masy ciała, a tym samym pozyskiwane skóry są większe oraz znacznie przyspiesza dojrzałość zimowej okrywy włosowej, skracając okres ich chowu o 65-80 dni, jednakże jakość okrywy włosowej jest gorsza niż u zwierząt kontrolnych.

Badaniem sekcyjnym po uboju nerek stwierdzono przekrwienie opon mózgowych i mózgu, zastój krwi w wątrobie, przekrwienie części rdzennej nerek i obrzmienie zastoinowe śledziony u pojedynczych zwierząt z grupy doświadczalnej i kontrolnej.

U niektórych zwierząt, szczególnie u zwierząt z grupy doświadczalnej występowała w jamie brzusznej duża ilość tkanki tłuszczowej w postaci tzw. tłuszczu zapasowego. U kilkunastu sekcjonowanych nerek stwierdzono powiększenie śledziony, wykazującej cechy obrzmienia przerostowego, z większym nasileniem tych zmian u zwierząt grupy kontrolnej.

Badaniem hematologicznym u nerek grupy doświadczalnej i kontrolnej stwierdzono, że liczba białych i czerwonych krwinek oraz stężenie hemoglobiny i wartość hematokrytu mieściły się w granicach wartości referencyjnych. Badaniem biochemicznym stwierdzono wysoką aktywność enzymów wątrobowych (AspAT, ALAT, AP) oraz zbliżone do normalnych wartości poziomu mocznika, kreatyniny i glukozy, ale wartości średnie były znacznie wyższe w grupie nerek kontrolnych (tab. 1).

Tab. 1. Wskaźniki biochemiczne krwi badanych nerek (n = 10)

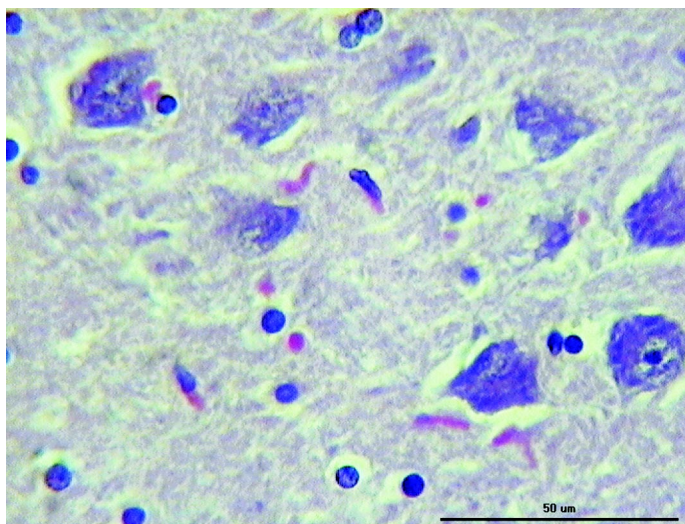
Grupa	AspAt u/l	AIAT u/l	AP u/l	Glukoza mmol/l	Mocznik mol/l	Kreatynina mmol/l
Doświadczalna	254,62	242,24	180,34	7,99	7,9	124,61
Kontrolna	392,87	487,31	784,98	7,449	14,415	67,88
Wartości referencyjne*	38,9-113,7	11,3-158,0	37-67	3,9-7,9	3,4-9,4	49,5-70,0

Objaśnienia: * – zakres wartości

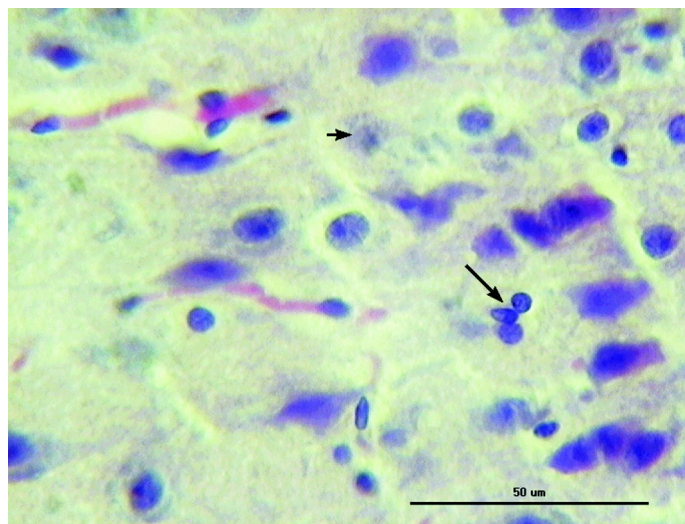
W preparatach histopatologicznych sporządzonych z wycinków mózgu, wątroby, śledziony i nerek stwierdzono zaburzenia w krążeniu, zmiany wsteczne i postępowe oraz odczyny zapalne. W mózgu zwierząt obu grup obok prawidłowego obrazu stwierdzono występowanie powiększonych komórek nerwowych z dużą zawartością ziarnistości Nissla (ryc. 1), przekrwienie mózgu, rozpad pojedynczych komórek

nerwowych oraz ogniskowe namnożenie się komórek glejowych (ryc. 2). Nadto u dwóch nerek z grupy kontrolnej stwierdzono przekrwienie opony miękkiej, wakuolizację pojedynczych komórek nerwowych z rozplemem mikrogleju i pseudoneuronofagią oraz przekrwienie naczyń włosowatych w korze mózgu i naczyń podoponowych (ryc. 3).

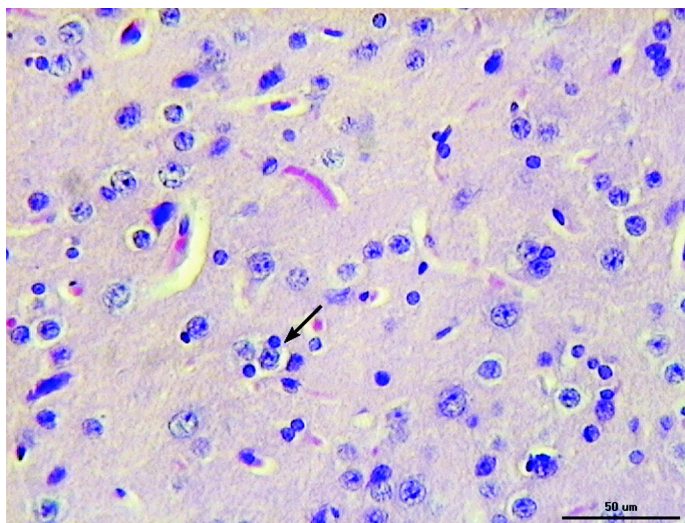
W wątrobie nerek stwierdzono zwyrodnienie mięszsowe i wodniczkowe komórek wątrobowych, liczne nacieki komórek limfocytarnych i plazmocytów wokół naczyń krwionośnych i w zrazikach wątrobowych, a w przestrzeniach bramnych obok wymienionych komórek dodatkowo występowały komórki eozynofilne i fibroblasty (ryc. 4). Zmiany zwyrodnieniowe i nacie-



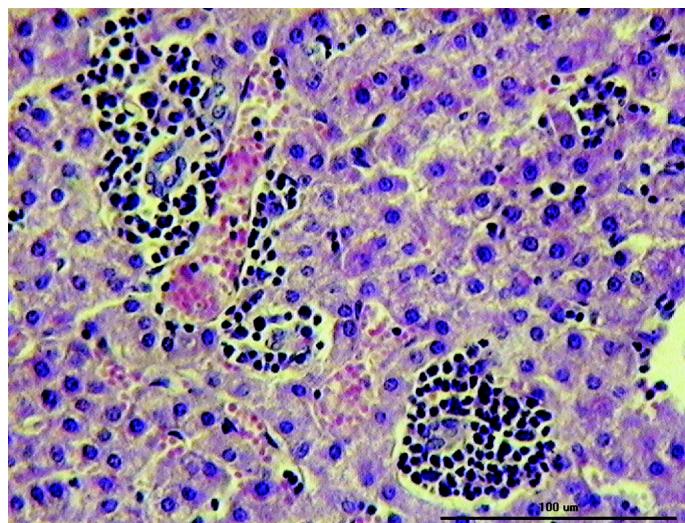
Ryc. 1. Występowanie powiększonych komórek nerwowych z dużą zawartością ziarnistości Nissla u norki z grupy doświadczalnej. Barw. HE



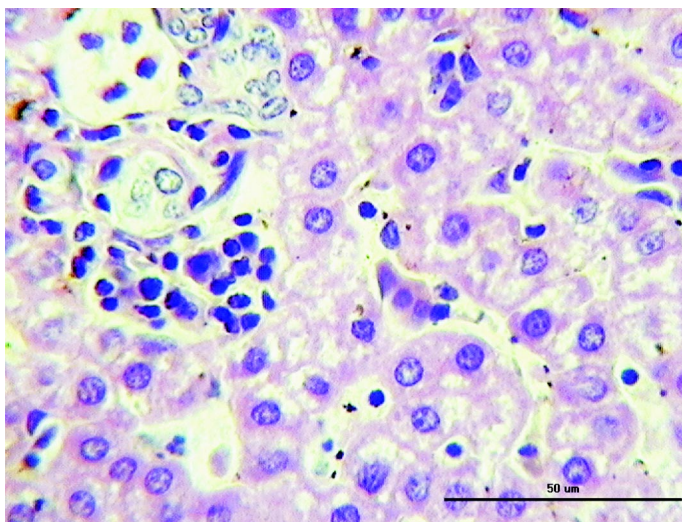
Ryc. 2. Przekrwienie naczyń włosowatych mózgu, rozpad pojedynczych komórek nerwowych (krótka strzałka) oraz namnażanie się komórek glejowych (długa strzałka) u norki z grupy doświadczalnej. Barw. HE



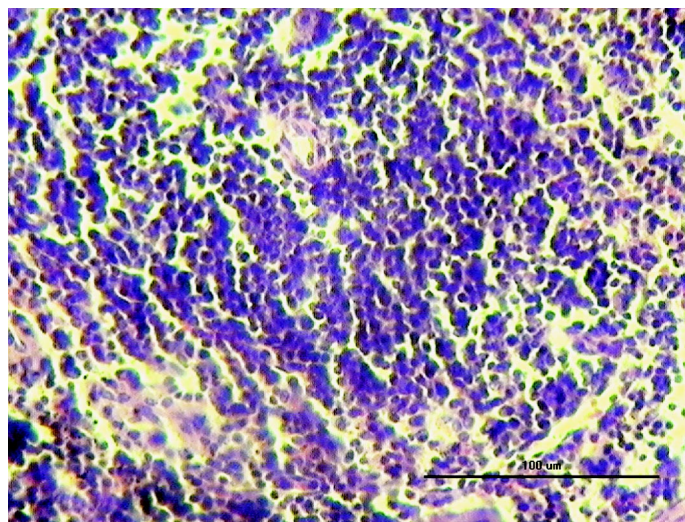
Ryc. 3. Przekrwienie naczyń włosowatych w mózgu oraz pseudoneuronofagia (strzałka) u norki z grupy kontrolnej. Barw. HE



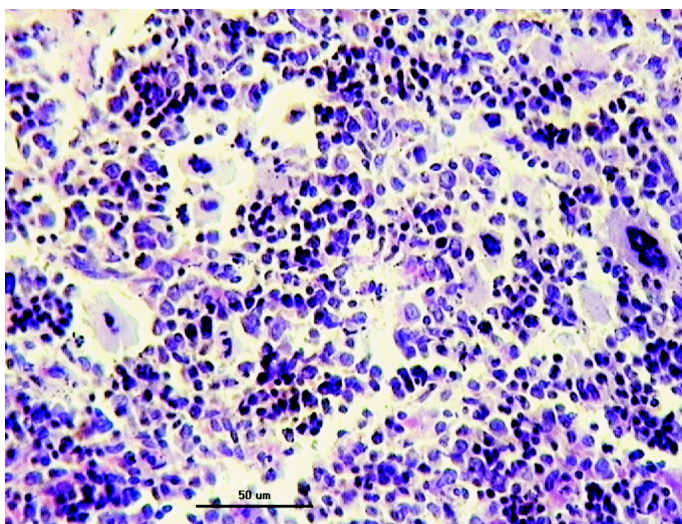
Ryc. 4. Nacieki komórek limfocytarnych w wątrobie oraz zwyrodnienie mięszsowe komórek wątrobowych u norki z grupy doświadczalnej. Barw. HE



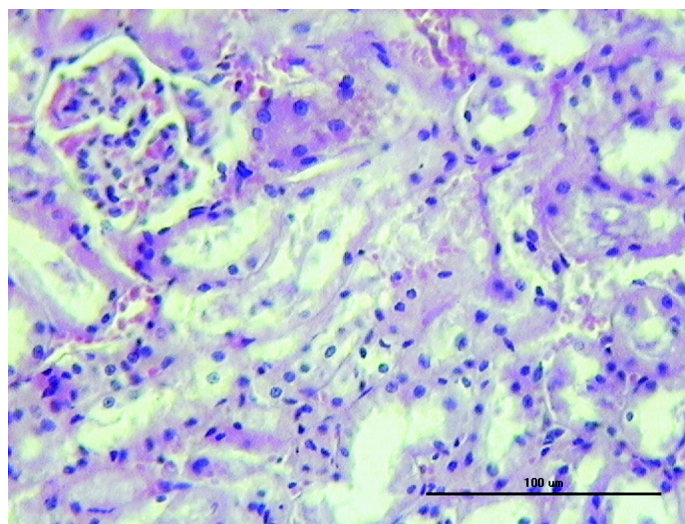
Ryc. 5. Nacieki różnych komórek w przestrzeni bramnej oraz zwyrodnienie wodniczkowe hepatocytów u norki z grupy kontrolnej. Barw. HE



Ryc. 6. Powiększenie grudki śledzionowej i namnażanie się komórek limfocytarnych u norki z grupy doświadczalnej. Barw. HE



Ryc. 7. Rozplem splenocytów i obecność megakariocytów

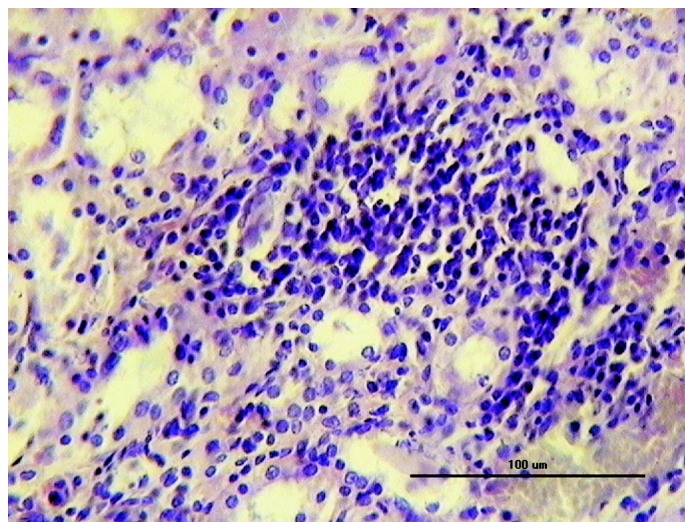


Ryc. 8. Zwyrodnienie szkliste nerki, przekrwienie kłębuszków nerkowych i naczyń międzykanalikowych oraz martwica pojedynczych komórek nabłonka kanalikowego u norki z grupy doświadczalnej. Barw. HE

ki komórkowe były bardziej nasilone w wątrobach zwierząt w grupie kontrolnej (ryc. 5).

W śledzionie nerek z obu grup zmiany histopatologiczne były podobne i w obrazie mikroskopowym obserwowano powiększenia grudek śledzionowych, zwiększoną liczbę ziarnistości hemosyderyny, rozplem splenocytów i przekrwienia zatok śledzionowych (ryc. 6), a u pojedynczych zwierząt w grupie kontrolnej obecne były także liczne megakariocyty (ryc. 7).

W nerkach większości nerek stwierdzono przekrwienie kłębuszków nerkowych i warstwy korowej. Komórki nabłonka kanalikowego warstwy korowej były objęte zwyrodnieniem miąższowym. W pojedynczych przypadkach stwierdzono zwyrodnienie szkliste kanalików nerkowych, a w nielicznych kłębuszkach nerkowych stwierdzono zapalenie endokapilarne (ryc. 8) oraz liczne nacieki limfocytarne, które występowały międzykanalikowo i okołokłębuszkowo, a także były liczne w warstwie korowej i pojedyncze w warstwie rdzennej (ryc. 9). U wszystkich nerek w grupie kon-



Ryc. 9. Obfite nacieki limfocytarne w nerce u norki z grupy doświadczalnej. Barw. HE

trolnej nasilenie zmian histopatologicznych w nerkach było większe niż w grupie doświadczalnej.

Obecność komórek plazmatycznych w naciekach w wątrobie i nerkach może być związana ze stacjonarnym występowaniem choroby aleuckiej nerek, zaś mniej intensywne nacieki u nerek w grupie doświadczalnej mogą świadczyć o wspomnianej, osłaniającej roli melatoniny w rozwoju plazmocytozy (13).

W grupie nerek doświadczalnych nie notowano zachorowań i padnięć nerek, co szczególnie jest istotne w odniesieniu do choroby aleuckiej, bowiem może to potwierdzać doniesienia innych autorów o osłaniającym działaniu melatoniny w rozwoju procesu chorobowego (13). Opisane w obu grupach zmiany anatomicznohistopatologiczne oraz wyraźny wzrost aktywności enzymów wątrobowych i mniej wyraźny wzrost mocznika i kreatyniny u nerek w grupie kontrolnej może być związany z żywieniem karmą wysokokaloryczną ze zwiększonym udziałem energii z tłuszczów zwierzęcych w miesiącach październik-listopad (7). Wskazywać to również może na korzystną rolę melatoniny w przemianach enzymów wątrobowych, mocznika i kreatyniny, co wydają się potwierdzać wyniki badań histopatologicznych, z których wynika, że nasilenie zmian na poziomie komórkowym było większe u zwierząt kontrolnych niż doświadczalnych.

Badania dotyczące znaczenia melatoniny w ochronie zdrowia i w poprawie wyników produkcyjnych zwierząt ze wszech miar zasługują na kontynuowanie.

Badania własne przeprowadzone w odniesieniu do nerek wydają się to potwierdzać.

Piśmiennictwo

1. Anisimov V. N., Zabezhinski M. A., Popovich I. G., Zaripova E. A., Musatov S. A., Andre V., Vigreux C., Godart T., Sichel F.: Inhibitory effect of melatonin on 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene-induced carcinogenesis of the uterine cervix and vagina in mice and mutagenesis in vitro. *Cancer Lett.* 2000, 156, 199-205.
2. Arendt J., Deacon S.: Treatment of circadian rhythm disorders-melatonin. *Chronobiol. Int.* 1997, 14, 185-204.
3. Arendt J., Skene D. J., Middleton B., Lockley S. W., Deacon S.: Efficacy of melatonin treatment in jet lag, shift work, and blindness. *J. Biol. Signals* 1999, 3, 296-301.
4. Attenburrow M. E., Cowen P. J., Sharpley A. L.: Low dose melatonin improves sleep in healthy middle-aged subjects. *Psychopharmacology*, Berlin 1996, 126, 179-181.
5. Barabas B., Bagdonas I. I., Piórkowska M., Korczyńska M.: Badanie parametrów okrywy włosowej nerek po implantacji melatoniny. *Przegl. Hod.* 2000, 53, 195-203.
6. Barabas B., Vanek M., Natanek A., Wojtyśiak D.: Histomorfologia włosów nerek traktowanych melatoniną. *Zesz. Nauk. AR Kraków, Hod. Biol. Zwierząt* 2001, 36, 73-84.
7. Bis-Wencel H., Saba L., Kopczewski A., Nowakowicz-Dębek B., Wnuk W.: Some biochemical parameters in serum of mink feed high energy feedstuff with antioxidant and preservative supplement. *Scientifur* 2004, 28, 165-167.
8. Chemineau P., Malpoux B., Delgadillo J. A., Guerin Y., Ravault J. P., Thimonier J., Pelletier J.: Control of sheep and goat reproduction; use of light and melatonin. *Anim. Reprod. Sci.* 1992, 30, 157-184.
9. Chemineau P., Malpoux B., Guerin Y., Maurice F., Pelletier J.: Light and melatonin for the control of sheep and goat reproduction. *Ann. Zootech.* Paris 1992, 41, 247-261.
10. Clapp-Lilly K. L., Smith M. A., Perry G., Harris P. L., Zhu X., Duffy L. K.: Melatonin acts as antioxidant and prooxidant in an organotypic slice culture model of Alzheimer's disease. *Neuroreport* 2001, 12, 1277-1280.

11. Connor M. L.: Melatonin rhythm in cycling gilts under long and short photoperiod. *Proc. 12th Internat. Congress Animal Reproduction*, Hague 1992, s. 2030-2032.
12. D'Occhio M. J., Suttie J. M.: The role of the pineal gland and melatonin in reproduction in male domestic ruminants. *Anim. Reprod. Sci.* 1992, 30, 135-155.
13. Ellis L. C.: Melatonin reduces mortality from Aleutian disease in mink (*Mustela visio*). *J. Pineal Res.* 1996, 21, 214-217.
14. Fucada Y., Okano T.: Circadian clock system in the pineal gland. *Mol. Neurobiol.* 2002, 25, 19-30.
15. Gall Ch. von, Stehle J. H., Weaver D. R.: Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction. *Cell Tissue Res.* 2002, 309, 151-162.
16. Kliger C. A., Gehad A. E., Hulet R. M., Roush W. B., Lillehoj H. S., Mashaly M. M.: Effect of photoperiod and melatonin on lymphocyte activities in male broiler chickens. *Poultry Sci.* 2000, 79, 18-25.
17. Kopczewski A.: Wartości hematologiczne i biochemiczne oraz zasady pobierania i przesyłania próbek do badań laboratoryjnych, [w:] *Praca zbiorowa: Podstawy hodowli lisów i nerek. Profilaktyka i zwalczanie chorób*. PWRiL, Warszawa 2002, 336-337.
18. Kowalewska I., Kmieć M., Kulig H.: Melatonina i jej receptory. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 899-901.
19. Lewczuk B.: Mechanizmy adrenergicznej regulacji sekrecji melatoniny w szyszynce świni-badania in vitro. *Praca hab.*, Wyd. UWM, Olsztyn 2002.
20. Lissoni P., Tancini G., Barni., Paolorossi F., Ardizzoia A., Conti A., Maestroni G.: Treatment of cancer chemotherapy induced toxicity with the pineal hormone melatonin. *Support. Care Cancer* 1997, 5, 126-129.
21. Lissoni P., Barni., Mandala M., Ardizzoia A., Paolorossi F., Vaghi M., Longarini R., Malugani F., Tancini G.: Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumor patients with poor clinical status. *Eur. J. Cancer* 1999a, 35, 1688-1692.
22. Pacchierotti C., Iapichino S., Bossini L., Pieraccini F., Castrogiovanni P.: Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. *Front. Neuroendocrinol.* 2001, 22, 18-32.
23. Prost M.: Centra melano-makrofagowe w tkankach ryb. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 1027-1029.
24. Steful J., Hortner M., Ghosh M.: Gene expression of the key enzymes of melatonin synthesis in extrapineal tissues of the rat. *J. Pineal Res.* 2001, 30, 243-247.
25. Witt-Edenbry P. A., Bennett J., Jarzynka M. J., Firestone S., Melan M. A.: Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanism. *Life Sci.* 2003, 72, 2183-2189.

Adres autora: prof. dr hab. Antoni Kopczewski, ul. T. Wendy 2F, 80-299 Gdańsk; e-mail: zhwo@wiw.gdansk.gov.pl