

l'activité de la dehydrogenase et de l'acide lactique augmentait, ce qui répondrait à la période des changements dans les muscles, causés par la pénétration et l'incystation des larves. L'activité de l'aldolase dans le plasma ressemblait à celle du GPT, mais les changements étaient moins accentués.

Hankiewicz J., Kozar M., Szaflarski J. — **Aktivität der Transaminasen (GOT und GPT) der Dehydrogenase der Milchsäure (DKM) und Aldolase (ALD) im Kaninchenplasma in der experimentellen Trichinose.**

Bei 12 mit Trichinen infizierten Kaninchen (5—10 Tausend Trichinen per os) wurde die Aktivität der Dehydrogenase der Milchsäure, der Transaminasen (GOT und GPT) sowie Aldolase im Blutplasma vor

und im Laufe von 39 Tagen nach der Infizierung untersucht.

Es ist festgestellt worden, dass das Verhalten der Aktivität mancher Enzyme den Entwicklungszyklus der experimentellen Trichinose bestätigt. Bereits nach 3 Tagen nach der Infektion (Anfangsstadium der Trichinenentwicklung im Verdauungstraktus) stieg die Aktivität GPT (fast dreifach) und verblieb auf einem hohen Niveau fast durch den ganzen Infektions- und Beobachtungszeitraum.

In 3—4 Woche wuchs ebenfalls die Aktivität GOT sowie im Laufe der langsamen Erniedrigung — die Aktivität der Dehydrogenase der Milchsäure was den Veränderungen der Muskeln durch Larvenaushöhlung und ihrer Incistierung entspricht. Die Aktivität der Aldolase im Plasma war ähnlich wie GPT doch mit weniger deutlichen Veränderungen.

JERZY MIERZEJEWSKI

Zachowanie się wolnych aminokwasów surowicy u świń zakażonych wirusem pomoru świń

Z Ośrodka Badawczego Służby Weterynaryjnej

W dotychczasowych badaniach biochemicznych przy pomorze świń nie podejmowano próby oznaczania wolnych aminokwasów surowicy. Wynika to prawdopodobnie z tego faktu, że oznaczanie aminokwasów jest bardzo pracochłonne, wymaga odpowiedniej aparatury i doświadczenia (3).

Jak wiadomo, pomór świń charakteryzuje się zespołem objawów posocznicowych, często o charakterze krwotocznym. W postaci podostrej dołącza się do tego między innymi żółtaczka (6). U ludzi przy różnych schorzeniach, w których zaatakowana jest wątroba, towarzyszą często zmiany w zachowaniu się wolnych aminokwasów we krwi (3, 5). Doniesiono też o zmniejszeniu się ilości aminokwasów u zwierząt przy takich chorobach zakaźnych jak tularemia i salmonelloza (9, 11).

W związku z tym postanowiono prześledzić zachowanie się wolnych aminokwasów w surowicy u grupy świń zakażonych sztucznie zjadliwym szczepem wirusa pomoru świń, w szczególności badaniami objęto:

1. Zachowanie się ogólnego poziomu wolnych aminokwasów u świń zakażonych wirusem pomoru.
2. Analizę chromatograficzną składu wolnych aminokwasów i określenie ilościowe aminokwasów, wykazujących największe odchylenia po zakażeniu w stosunku do stanu przed zakażeniem.

Materiał i metody

Badaniami objęto 30 młodych świń o ciężarze ciała od 30 do 40 kg będących własnością zakładów „Biotwet” w Puławach. Świnie te zakażono szczepem „W” wirusa pomoru świń, w celu wyprodukowania szczepionki przeciwpomorowej.

Krew do badania pobierano 1 raz przed zakażeniem świń oraz codziennie po zakażeniu aż do upadku zwierzęcia, bądź zglądzenia w stanie agonalnym. Pobieranie przeprowadzano stale w godzinach porannych przed pierwszym karmieniem świń, stosując powszechnie przyjętą technikę pobierania z naczyń krwionośnych ogona. Surowicę oddzielano zwykłym sposobem (oddzielenie skrzepu, wirowanie), odbiałczano 3 częściami etanolu absolutnego i wirowano. W odbiałczonym płynie oznaczano poziom ogólny aminokwasów metodą podaną przez Trolla i wsp. (10). Wyniki odczytywano w kolorymetrze fotoelektrycznym KF-2 stosując filtr nr 4 i kuwetę o średnicy 0,5 cm. Uzyskane wyniki oznaczeń przeliczono wg krzywej wzorcowej sporządzonej z alaniny.

Analizę jakościową aminokwasów przeprowadzano przy użyciu metody chromatografii dwukierunkowej

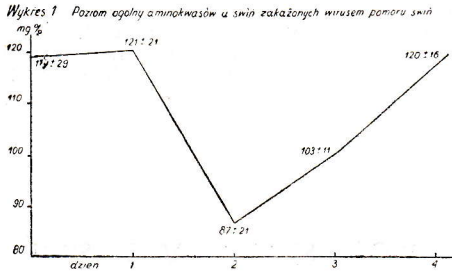
wstępującej na bibule Whatmana nr 3 w następujących układach: fenol:woda (4:1) i propanol:woda (7:3). Rozwinięte i wybarwione chromatogramy porównywano z mapą aminokwasową wzorcową sporządzoną z szeregu dwukierunkowych chromatogramów znanych aminokwasów (2). Określenie ilościowe aminokwasów, wykazujących największe odchylenia od normy po zakażeniu, przeprowadzano przy użyciu metody Giri i wsp. (4). Wyniki odczytywano w kolorymetrze stosując filtr nr 5 i kuwetę o średnicy 1 cm. Wartości oznaczeń przeliczono wg wzorcowych skal przygotowywanych oddzielnie dla każdego oznaczanego aminokwasu.

Uzyskane wyniki oznaczeń poddano analizie statystycznej obliczając średnie arytmetyczne, odchylenia standardowe oraz test t Studenta, dla wykazania różnic w poziomie aminokwasów po zakażeniu w stosunku do stanu przed zakażeniem. (8).

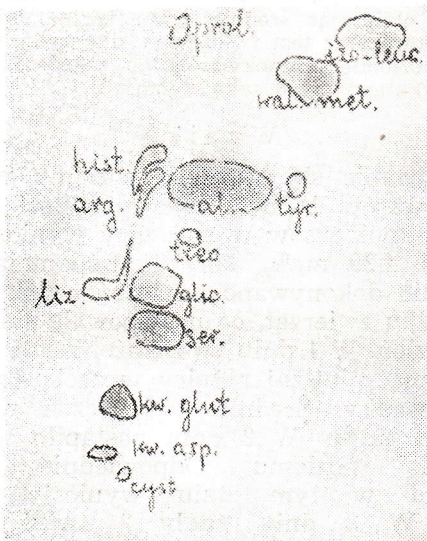
Wyniki

Zachowanie się ogólnego poziomu wolnych aminokwasów. U świń zdrowych poziom wolnych aminokwasów w surowicy wyniósł średnio 119 ± 29 mg%. Jak już wspomniano, po zakażeniu dokonywano oznaczeń codziennie aż do upadku zwierząt, co następowało stale na 4 lub 5 dzień. W 1 dniu po zakażeniu nie stwierdzono znaczniejszej różnicy w zachowaniu się aminokwasów. Średnia z oznaczeń wyniosła 121 ± 21 mg%. W 2 dniu nastąpiło wyraźne obniżenie poziomu. Odpowiednie średnie wartości w tym dniu wyniosły 87 ± 21 mg%. W 3 dniu padły 2 świnie przed pobraniem krwi do badań. U pozostałych 28 nastąpił ponownie nieznaczny wzrost poziomu aminokwasów dochodzący do 103 ± 11 mg%. W 4 dniu padło dalszych 6 świń przed pobraniem krwi, a u pozostałych 22 żywych sztuk przeprowadzono ostatnie badanie. Stwierdzono dalszy wzrost poziomu aminokwasów, zbliżony do takiego stanu, jaki był przed zakażeniem. Średnia arytmetyczna oznaczeń z tego dnia wyniosła 120 ± 16 mg%. Uzyskane wyniki badań obrazuje wykres 1.

Stosując test t Studenta wykazano jedynie w 2 dniu po zakażeniu znamiennej statystycznie różnicę w poziomie aminokwasów w stosunku do stanu przed zakażeniem. Wartość testu w tym dniu wyniosła 3,39, a więc była większa od wziętej z tabeli przy 57 stopniach swobody i 5% prawdopodobieństwa. W pozostałych dniach różnice w poziomie aminokwasów nie były znamienne.



Analiza jakościowa aminokwasów przy użyciu chromatografii dwukierunkowej, przeprowadzona w surowicy świń zdrowych wykazała obecność plam odpowiadających, wg mapy wzorcowej, następującym aminokwasom: kw. asparaginowemu, kw. glutaminowemu, serynie, glicynie, treoninie, alaninie, tyrozynie, prolinie i grupie waliny-metioniny oraz leucyny-izoleucyny. Ponadto stwierdzono występowanie śladów plam odpowiadających cystynie, cysteinie, lizynie, argininie i histydynie. Typowy chromatogram dwukierunkowy aminokwasów surowicy świń zdrowych przedstawia fot. 1.

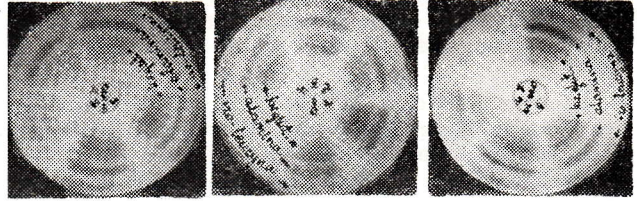


Fot. 1. Chromatogram dwukierunkowy aminokwasów surowicy świni zdrowej

Najbardziej intensywnie wybarwiały się plamy odpowiadające alaninie, kw. glutaminowemu i grupie leucyny-izoleucyny, w mniejszym stopniu — kw. asparaginowemu, glicynie, serynie, treoninie, grupie waliny-metioniny.

Ilościowe zachowanie się poszczególnych aminokwasów po zakażeniu ilustrują przykładowo chromatogramy krążkowe sporządzone

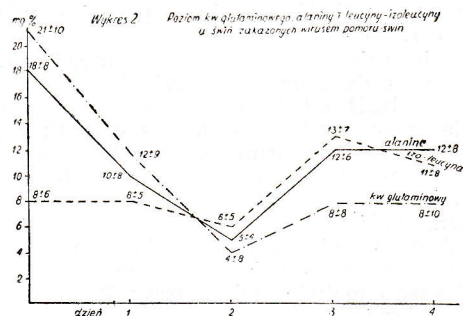
wg Giri z surowicy świń oznaczonych numerami 3, 4, 8.



Fot. 2-4. Chromatogramy krążkowe surowicy świń przed i po zakażeniu wirusem pomoru świń

W środku chromatogramu zaznaczony jest kolejny numer świni, a wokół niego dni badania. Badanie przed zakażeniem przyjęto jako 0. Cyfry 1, 2, 3, 4, oznaczają kolejne dni po zakażeniu. Analiza wizualna przedstawionych chromatogramów wykazuje występowanie, w różnych dniach po zakażeniu, mniej lub bardziej wyraźnych zmian w intensywności plam aminokwasów. I tak, najbardziej widoczną zmianą jest u świni nr 8 zupełny niemal brak aminokwasów już w 1 dniu po zakażeniu, po czym w 2, a szczególnie w 3 dniu powrót do normy. U pozostałych świń, jedynie w 2 dniu, występuje zmniejszenie się intensywności plam aminokwasowych. Najbardziej wyraźnie zmniejsza się intensywność plamy leżącej na zewnątrz, odpowiadającej grupie leucyny-izoleucyny. Poza tym, w 2 i 3 dniu po zakażeniu zmniejsza się znacznie intensywność plam odpowiadających alaninie i kw. glutaminowemu. W 4 dniu następuje powrót intensywności plam do normy, a nawet w niektórych chromatogramach plamy odpowiadające kw. glutaminowemu wykazują intensywniejsze zabarwienie w stosunku do stanu przed zakażeniem (świnie nr nr 3, 8). Zjawisko to nie było jednak stałe i u większości świń intensywność plamy kw. glutaminowego nie osiągała tego natężenia, jakie stwierdzono przed zakażeniem.

Z chromatogramów krążkowych surowic wszystkich badanych świń dokonano metodą Giri (4) ilościowego oznaczenia kwasu glutaminowego, alaniny i leucyny-izoleucyny. Zachowanie się średnich wartości tych oznaczeń przedstawione jest na wykresie 2.



Jak wynika z wykresu, przed zakażeniem poziom kw. glutaminowego wynosił 21 mg%, alaniny 18 mg% i leucyny-izoleucyny 8 mg%

przy znacznym odchyleniu standardowym. Już w 1 dniu po zakażeniu stwierdzono prawie dwukrotne zmniejszenie się poziomu kw. glutaminowego z 21 do 12 mg%. Podobnie zmniejszył się poziom alaniny z 18 do 10 mg%, natomiast grupa leucyny-izoleucyny pozostawała w normie. W 2 dniu nastąpił dalszy spadek poziomu kw. glutaminowego i alaniny do 4 i 5 mg%. W tym dniu nastąpiło też nieznaczne obniżenie się poziomu leucyny-izoleucyny z 8 do 6 mg%. Niskie średnie z oznaczeń wymienionych 3 aminokwasów w 2 dniu po zakażeniu są zgodne z wynikami badań ogólnego poziomu wolnych aminokwasów (wykres 1) i z analizą wizualną chromatogramów krążkowych. Począwszy od 3 dnia po zakażeniu obserwowano stopniowy wzrost poziomu wszystkich 3 badanych aminokwasów. Uzyskane średnie oznaczeń w 3 dniu odpowiadały w przybliżeniu średnim z 1 dnia po zakażeniu. Odpowiednie wartości przedstawiały się następująco: dla kw. glutaminowego 8 mg%, dla alaniny 12 mg% i dla leucyny-izoleucyny 13 mg%. W ostatnim, tj. w 4 dniu badań poziom kw. glutaminowego i alaniny nie uległ zmianie, a poziom leucyny-izoleucyny obniżył się nieznacznie do 11 mg%. Należy zaznaczyć, że zarówno przed i po zakażeniu uzyskano znaczny rozrzut oznaczeń aminokwasów, o czym świadczą duże odchylenia standardowe. Jedynie poziom alaniny w 2 dniu po zakażeniu okazał się statystycznie znamienny w porównaniu ze stanem przed zakażeniem. Wartość testu t wyniosła 2,16, a więc była większa od wziętej z tabeli przy 58 stopniach swobody i 5% prawdopodobieństwa błędu. Wahania poziomu kw. glutaminowego i leucyny-izoleucyny okazały się we wszystkich dniach statystycznie nieistotne.

Omówienie

Uzyskane wyniki badań własnych wykazują, że w trakcie zakażenia świń wirusem pomoru następuje obniżenie się ogólnego poziomu wolnych aminokwasów. Wykazano ponadto, że obniżeniu ulegają w przybliżeniu wszystkie wolne aminokwasy, a w szczególności te, które występują w największej ilości, jak kw. glutaminowy, alanina, grupa leucyny-izoleucyny. Uzyskane wyniki należy jednak przyjąć z dużą ostrożnością. We wszystkich bowiem badaniach, a w szczególności przy oznaczaniu ilościowym pojedynczych aminokwasów, uzyskano znaczny rozrzut oznaczeń. Statystycznie udało się wykazać różnicę jedynie w poziomie ogólnym aminokwasów i alaniny w 2 dniu po zakażeniu w stosunku do stanu przed zakażeniem.

Interesujące wydaje się być porównanie zachowania się aminokwasów z przebiegiem temperatury świń. Dla celów dokumentacji produkcji szczepionki codziennie była mierzona temperatura u badanych świń. Średnie arytmetyczne temperatury wraz z rozrzutem pomiarów przedstawiały się następująco: przed zakaże-

niem 38,3 (37,9—38,8), w kolejnych dniach po zakażeniu 38,7 (38—39,4), 39,7 (39,4—39,9), 40,5 (40,3—40,8) i 40,9 (40,5—41). Z porównania zachowania się temperatury z wynikami badań własnych wynika, że ogólnemu zmniejszeniu się poziomu wolnych aminokwasów w 2 dniu po zakażeniu towarzyszy narastanie temperatury u zakażonych świń. Utrzymywaniu się podwyższonej temperatury, a nawet nieznacznemu dalszemu narastaniu w 3 i 4 dniu po zakażeniu nie towarzyszyło dalsze obniżanie się poziomu wolnych aminokwasów. Na odwrót ogólny poziom wolnych aminokwasów powrócił do stanu, jaki był przed zakażeniem. Powrót ten nie zachodził jednak proporcjonalnie u wszystkich badanych aminokwasów, np. średnie alaniny i kw. glutaminowego nie osiągnęły swego poziomu przed zakażeniem, a grupa leucyny-izoleucyny nawet go przewyższyła. Różnice te mogą mieć związek z dalszą przemianą aminokwasów. Kw. glutaminowy i alanina należą do typowych aminokwasów glikogennych, tzn. przekształcają się po dezaminacji w glikozę, natomiast leucyna i izoleucyna są aminokwasami ketogennymi a więc tworzy się z nich aceton lub ciała ketonowe (1). Zagadnienie przemian aminokwasów wykracza jednak poza ramy tej pracy.

W oparciu o uzyskane wyniki, nie można określić jakie jest podłoże zmian w zachowaniu się wolnych aminokwasów w surowicy u świń chorych na pomór. Może się składać na to cały szereg czynników. Wg *Kowarzyka* zaburzenia przemiany materii w ostrych chorobach zakaźnych są częściowo następstwem gorączki, niedożywienia wskutek wymiotów, biegunek, braku apetytu, upośledzenia krążenia krwi; w dużej mierze są one wyrazem odruchów patologicznych, modyfikujących metabolizm i związanych z wegetacyjną funkcją układu nerwowego (7). Wynika stąd, że w chorobach zakaźnych stosunki biochemiczne mogą być zachwiane na skutek różnych stanów patologicznych występujących często równocześnie. Uzyskane wyniki badań własnych pozwalają jedynie na stwierdzenie, że przy pomorze świń następuje obniżenie się poziomu wolnych aminokwasów, podobnie jak i przy innych chorobach zakaźnych zwierząt, takich jak tularemia i salmonelloza (9, 11). Obniżenie to jest jednak przejściowe, występuje w okresie narastania ciepłoty wewnętrznej i może być jednym z przejawów wczesnej mobilizacji sił obronnych zakażonego organizmu. Brak doniesień o tego rodzaju badaniach przy innych chorobach zakaźnych zwierząt nie pozwala na przeprowadzenie szerszej analizy porównawczej.

Obniżanie się ogólnego poziomu wolnych aminokwasów w okresie narastania temperatury, jako stałe zjawisko patologiczne, może być podstawą do podjęcia badań nad opracowaniem nowej, pomocniczej próby w diagnostyce laboratoryjnej pomoru świń. Oczywiście, pełne określenie możliwości wykorzystania tej

próby można będzie ocenić po przeprowadzeniu badań różnicowych nad zachowaniem się wolnych aminokwasów przy innych chorobach zakaźnych świń.

Wnioski

1. Przy zakażeniu świń wirusem pomoru następuje przejściowe obniżenie się poziomu wolnych aminokwasów krwi.

2. Najniższy poziom statystycznie znamienny, występuje w drugim dniu po zakażeniu, tj. w okresie narastania temperatury ciała.

3. Analiza chromatogramów wykazuje, że obniżanie ogólnego poziomu następuje na skutek zmniejszania się ilości wszystkich aminokwasów.

4. Znacznym zmianom ulega poziom tych aminokwasów, które występują w dużej ilości,

jak kw. glutaminowy, alanina i leucyna-izoleucyna.

Piśmiennictwo

1. Baldwin E.: Biochemia dynamiczna PZWL, W-wa 1959.
2. Blauth-Opieńska J.: Chromatografia PWN, W-wa 1957.
3. Czyżyk A.: Badania czynnościowe w klinice chorób wewnętrznych PZWL, W-wa 1961.
4. Giri K. W.: Rao NAN — Nature 169, 923, 1952.
5. Homolka J.: Diagnostyka biochemiczna PZWL, W-wa 1962.
6. Hutyla F., Marek J., Manninger R., Mocsy J.: Szczegółowa patologia i terapia chorób zwierząt t. I, PWRL, W-wa 1962.
7. Kowarzyk H.: Patofizjologia ogólna ostrych chorób zakaźnych" w książce Wszelakiego pt. „Ostre choroby zakaźne”, PZWL, W-wa 1956.
8. Oktaba W.: Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalnictwa, PWN Łódź—W-wa, 1962.
9. Ross R. T., Holtman D. F., Gilfillan R. F.: J. Bacteriology 70, 272, 1955.
10. Troll W. R., Keith C.: J. Biol. Chem. 200, 803, 1953.
11. Woodward J. M., Sbarra A. J., Holtman D. F.: J. Bacteriology 67, 60, 1954.

Adres autora: dr Jerzy Mierzejewski, Puławy, ul. Partyzantów 8 m. 18.

MARIAN ŚWIETLIKOWSKI

Methyridina — nowy lek w zwalczaniu pasożytów

Z Zakładu Parazytologii PAN
Kierownik: prof. dr W. MICHAJŁOW

W ostatnich latach wprowadzono do medycyny weterynaryjnej wiele nowych leków. Wśród nowości znajduje się pewna liczba preparatów czynnych przeciw robakom pasożytniczym. Lekiem, który zdaje się być bardzo obiecujący na polu walki z pasożytami, ze względu na wysoką skuteczność przeciw wielu grupom robaków, jest methyridina.

Methyridina jest związkiem opracowanym przez Brytyjski Przemysł Farmaceutyczny (ICI), jest ona 2/β methoxyethyl/pyridina. Jest to bezbarwny płyn dobrze rozpuszczający się w wodzie i cechujący się silnym słodkawym zapachem. Methyridina jest związkiem wywołującym korozję wielu metali, a nawet tworzyw sztucznych i gumy. Wielkim plusem leku jest to, że zwierzętom może on być zadawany zarówno w postaci iniekcji podskórnych i dootrzewnowych, jak i *per os*.

Methyridina w organizmie cechuje się szybką absorpcją i dyfuzją do tkanek ciała, jest ona rozprzeczana przez krwiobieg i z krwi dyfunduje do organów, a nawet do światła przewodu pokarmowego. Po doustnym zadaniu leku, przez pewien czas spożytko jego wysoką koncentrację w żołądku. Lek jest prawdopodobnie w większości absorbowany przez przednią część jelita cienkiego. Methyridina ma łatwość rozchodzenia się z krwi do tkanek i z tkanek do krwi, a nawet do światła jelit, dążąc do wyrównania koncentracji w organizmie. Szczytową koncentrację leku w organizmie obserwuje się w 2 godz. po zadaniu, a w 16 godz. już bardzo niewiele daje się go stwierdzić.

U krów mlecznych w 3 godz. po zadaniu leku może wystąpić w mleku jego koncentracja do około 50 mg w ml mleka. Ciekawe jest, że mimo wysokiej koncentracji leku w trawieniu pasożytniczym tam robaki są niby niewrażliwe na lek. Wykazano doświadczalnie, że ta pozorną niewrażliwość powodowana jest przez kwaśny odczyn soku żołądkowego, który łatwo rozkłada methyridinę. Ustalono, że przy pH 9 koncentracja methyridiny 1:40 tys. zabija robaki należące do rodzajów *Ostertagia* i *Nippostrongylus*, zaś przy pH 5 trzeba do zabicia tych samych robaków użyć koncentracji aż 1:5 tys.

Methyridina dla celów leczniczych przeciw pasożytom może być zadawana zwierzętom w dawce

200 mg na kg wagi ciała. Lekiem zawierającym methyridinę i zadawanym doustnie jest angielski „Mintic” ICI. Zadawany jest on w dawce 0,56 ml na kg wagi ciała. Lekiem zadawanym w postaci iniekcji jest „Promintic” również ICI, dawka leku w iniekcji wynosi 0,22 ml na kg wagi ciała. Kuracja polega na trzykrotnym zadaniu leku w odstępach 24 godzin.

W doświadczeniach na zwierzętach laboratoryjnych okazało się, że methyridina jest lekiem działającym nie tylko na postacie dorosłe robaków, ale również na ich larwy. Szczególnie wrażliwymi na methyridinę okazały się włośnice. Dojrzałe włośnice ginęły w 99%, a ich larwy znajdujące się w tkankach w 33%. Dawki leku używane w doświadczeniach z włośnicami wynosiły 180 mg/kg i zadawane były przez 3 kolejne dni.

Szkodliwe działanie methyridiny na nicienie polega na tym, że po przeniknięciu przez oskórek powoduje ona nieodwracalny paraliż mięśni wora skórno-mięśniowego nicienia.

Methyridina jest lekiem działającym szczególnie intensywnie na nicienie pasożytnicze. Nie zaobserwowano jego zgubnego wpływu na tasiecmce. Lek okazał się preparatem mającym szczególnie duże możliwości w zwalczaniu robaków żołądkowo-jelitowych u przeżuwaczy. Zadawana jako iniekcje podskórne lub dootrzewnowe wykazuje methyridina u przeżuwaczy efektywność leczenia sięgającą przeciw nicieniom rodzajów:

<i>Ostertagia</i> sp.	77%
<i>Trichostrongylus axei</i>	81%
<i>Trichostrongylus</i> sp.	98%
<i>Nematodirus</i>	100%
<i>Hoemonchus</i>	83%
<i>Chabertia</i>	56—92%
<i>Oesophagostomum</i>	72—100%
<i>Trichuris</i>	100%

Methyridina okazała się także dobrym lekiem przeciw *Paramphistomum* sp. u przeżuwaczy, już pojedyncza dawka leku likwiduje 43% inwazji, a potrójna kuracja usuwa ją do 99%.

Po zastosowaniu methyridiny przeciw nicieniom płucnym u przeżuwaczy okazało się, że działa ona skutecznie tylko na nicienie z rodzaju *Dictyocaulus* zarówno u owiec, jak i u bydła. Skuteczne okazało się leczenie telazjozy bydła za pomocą methyridiny,