

ZBIGNIEW ROLIŃSKI

## Aktywność estrogenna kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata*), życicy trwałej (*Lolium perenne*) i kostrzewy łąkowej (*Festuca pratensis*)

Katedra Farmakologii Wydziału Weterynarii WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr G. STASKIEWICZ

Na fitoestrogeny w roślinach paszowych zwrócono uwagę po stwierdzeniu, że mogą wpływać korzystnie na produkcję mleka (3) oraz że w pewnych okolicach są przyczyną zaburzeń w rozrodzie u owiec (5). Ustalono także, że niektóre trawy (14) zawierają również fitoestrogeny. W wyniku dotychczasowych badań stwierdzono, że estrogeny roślinne mają budowę pewnych izoflawonów. Większość tych związków posiada stosunkowo małą aktywność ale występują one w roślinach w dużych ilościach. Wykazano zmienność w występowaniu estrogenów roślinnych w zależności od stadium wzrostu, pory roku oraz różną zawartość w poszczególnych latach (2, 7, 13, 15). *Bennetts* i *Underwood* (5) i *Bickoff* i wsp. (8) stwierdzili, że *Trifolium pratense* traci swoją aktywność w następstwie wędnięcia i suszenia na polu, znacznie mniejsze straty aktywności estrogennej stwierdzono przy sztucznym suszeniu roślin. *Adler* (1) stwierdził fakt równoczesnego występowania w roślinach obok związków estrogennych, czynników antyestrogennych znoszących działanie zarówno estrogenów zwierzęcych jak i roślinnych. Ten fakt mógłby częściowo tłumaczyć rozbieżne wyniki w badaniach estrogennych w paszach. Na przykład *Dohan* i wsp. (10), *Kitts* i wsp. (13) i *Pieterse* i *Andrews* (15) nie wykazali działania estrogennego kupkówki pospolitej, natomiast *Legg* i wsp. (14), *Kallela* (12) oraz *Schoop* i wsp. (17) wykazali jej aktywność estrogenną. W racjonalnym żywieniu zwierząt należałoby obecnie uwzględnić zawartość estrogenów roślinnych w poszczególnych paszach.

W ślad za pierwszym doniesieniem o wykazaniu aktywności estrogennej mączek z lucerny (16) praca ta ma na celu ustalenie ewentualnej aktywności estrogennej trzech podstawowych traw pastwiskowych zebranych w dwu różnych okresach wegetacji.

### Materiał i metody

Do badań użyto następujące trawy: kupkówkę pospolitą (*Dactylis glomerata*) — 3 próby, życicę trwałą — rajgras angielski (*Lolium perenne*) — 2 próby, kostrzewę łąkową (*Festuca pratensis*) — 2 próby oraz słomy omlotowe tych traw. Słomy zostały zebrane w lipcu, a trawy we wrześniu 1965 r. na terenie GRN — Niemce, pow. Lublin. Wszystkie próby suszono na powietrzu, po czym po rozdrobieniu ekstrahowano je acetonem wg zmodyfikowanego sposobu podanego przez *Bickoffa* i wsp. (5). Gotowe ekstrakty rozpuszczano na gorąco w oleju z oliwek tak aby 1 ml olejowego wyciągu odpowiadał 10 g suchego surowca.

Aktywność estrogenną oznaczano zmodyfikowaną metodą *Evansa* i wsp. (10) używając niedojrzałych

pićwów myszy o wadze od 6 do 8 g. Myszy doświadczalne otrzymywały olejowe ekstrakty doustnie przez 4 dni w ilości 0,1 ml dziennie. Myszy kontrolne otrzymywały w takiej samej ilości oliwę. Do testowania każdej próby używano 10 myszy. Po 24 godz. od ostatniego podania myszy zabijano, a wycięte macice utrwalano przez 24 godz. w płynie Bouina, po czym po wypreparowaniu i osuszeniu na bibule ważono je na wadze torsyjnej. Użyta metoda jako kryterium aktywności estrogennej przyjmuje wzrost wagi macicy pod wpływem podanych wyciągów w porównaniu do wagi macic kontrolnych; wartości ustala się z krzywej wzorcowej przyrostu wagi macic u myszek otrzymujących wzrastające dawki stilboestrolu. W badaniach posługiwano się myszkami szczepu R III linia 19 c.

### Wyniki

Z badanych wyciągów trzech traw estrogenie czynnymi okazały się ekstrakty kupkówki i życicy trwałej, natomiast wyciągi z kostrzewy łąkowej i wyciągi ze słom omlotowych tych traw okazały się nieaktywne. Aktywność estrogenna kupkówki wyrażona w gamma stilboestrolu wahała się od 1,92 do 2,98 na kg s.m., a życicy trwałej od 0,62 do 0,93 gamma stilboestrolu na kg s.m. Szczegółowe wyniki podano w tabeli 1.

Tab. 1. Wyniki badań nad aktywnością estrogenną kupkówki pospolitej, życicy trwałej, kostrzewy łąkowej oraz słom omlotowych tych traw

Trawy	Sr. waga myszy w gramach	Sr. waga macicy w gramach	Aktywność w mg stilb/kg s.m. trawy
Kupkówka pr. 1	6,8	7,44 ± 0,38*	2,98
Kupkówka pr. 2	6,5	7,18 ± 0,53	2,5
Kupkówka pr. 3	7,4	7,07 ± 0,35	1,92
Życica pr. 1	7,1	6,75 ± 0,31	0,93
Życica pr. 2	7,4	6,63 ± 0,19	0,62
Kostrzewa pr. 1	7,0	4,46 ± 0,52	—
Kostrzewa pr. 2	6,7	4,76 ± 0,57	—
Słomy omlotowe			
kupkówki	7,8	4,60 ± 0,68	—
życicy	6,9	5,07 ± 0,23	—
kostrzewy	7,1	4,60 ± 0,45	—

Sr. waga macicy w mg myszy kontr. 5,02 ± 0,79

\* Odchylenie standardowe.

### Dyskusja

*Bartlett* i wsp. (3) pierwsi zwrócili uwagę na aktywność estrogenną traw na wiosnę i zaobserwowali przy tym zwiększoną mleczność u krów. Działanie estrogenne kupkówki wykazali po raz pierwszy *Legg* i wsp. (13), stwierdzając jednocześnie duże wahania sezonowe; w marcu stwierdzili aktywność odpowiadającą 15 gamma estradiolu na kg suchej masy liści,

w kwietniu najwyższą — 24 gamma estradiolu na kg s.m., w czerwcu najniższą — 3 gamma estradiolu na kg suchej masy liści. Ci sami autorzy przebadali aktywność estrogenną liści życicy i stwierdzili następujące wartości wyrażone w gamma stilboestrolu na kg suchej masy: w kwietniu — 45 gamma, w czerwcu — 2 gamma. Posługując się metodą rozmazów pochwoowych i wzrostu wagi macicy *Dohan* i wsp. (9) badali aktywność estrogenną kupkówki i życicy (próby zebrane w maju) stwierdzając jedynie aktywność życicy trwałej równoważną 3 gamma estradiolu na kg surowca. *Pieterse* i *Andrews* (14) używając metody wzrostu wagi macicy kastrowanych myszy stwierdzili aktywność życicy trwałej odpowiadającą około 1 gamma stilboestrolu na kg s.m., natomiast nie stwierdzili estrogennego działania kupkówki i kostrzewy łąkowej. *Kitts* i wsp. (12) przebadali działanie estrogenne kupkówki w ciągu 2 lat wegetacji w różnych okresach wzrostu i stwierdzili tylko stosunkowo małą aktywność prób zebranych w maju i wrześniu w drugim roku wegetacji. W przeciwieństwie do tego *Kallela* (11) posługując się metodą wzrostu wagi macicy kastrowanych szczurów stwierdził stosunkowo wysoką aktywność kupkówki (odpowiadającej 70 gamma stilboestrolu na kg s.m.) i życicy (równoważność 80 gamma stilboestrolu na kg s.m.). Badana przez *Kallelę* (11) kostrzewa łąkowa okazała się mniej aktywna (równoważność 20 gamma stilboestrolu na kg s.m.). *Schoop* i wsp. (16) stwierdzili aktywność estrogenną trzech wymienionych traw, przy czym najwyższą aktywnością odznaczała się życica trwała. Badania własne wyciągów z trzech prób kupkówki pospolitej i dwóch prób życicy trwałej wykazały niską aktywność estrogenną tych traw. Różnice pomiędzy wartościami wykazanymi w trzech próbach kupkówki i życicy były minimalne. Pobranie prób z jednego rejonu (GRN — Niemce), podobna gleba oraz podobny sposób uprawy i nawożenia tłumaczą podobieństwo wyników między trzema próbami kupkówki i dwiema próbami życicy. Słomy omłotowe kupkówki, życicy i kostrzewy zebrane w tym samym roku w lipcu okazały się również nieaktywne. Wobec stosunkowo niskiej aktywności kupkówki i życicy brak działania estrogennego słomy tych traw jest zrozumiałe w świetle badań *Bennetts* i *Underwood* (4) i *Bickoff* i wsp. (7), którzy stwierdzili duże straty aktywności estrogennej kończyny w trakcie wędnięcia i suszenia na polu.

### Wnioski

1. Badanie aktywności estrogennej trzech traw zebranych na terenie GRN — Niemce, pow. Lublin, wykazało stosunkowo niską aktywność. *Dactylis glomerata* (od 1,92 do 2,98 gamma stilboestrolu na kg s.m.), *Lolium perenne* (od 0,62 do 0,93 gamma stilboestrolu na

kg s.m.) oraz brak aktywności *Festuca pratensis*.

2. Badanie słomy omłotowej *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne* i *Festuca pratensis* zebranej na tym samym obszarze wykazało brak aktywności estrogennej tych słom.

### Piśmiennictwo

1. *Adler J. H.*: Anti-oestrogenic activity in alfalfa. *Vet. Record* 74, 1148—1150, 1962.
2. *Alexander G., Waston R. H.*: The assay of oestrogenic activity of *Trifolium subterraneum* L. by increase in uterine weight in the spayed guinea pig. I. Characteristics of the dose-response relationship. *Aust. J. agric. Res.* 2, 457—479, 1951.
3. *Bartlett S., Folley S. J., Rowland S. J., Curnow D. H., Simpson S. A.*: Oestrogens in grass and their possible effects on milk secretion. *Nature* 162, 845, 1948.
4. *Bennetts H. W., Underwood E. J.*: The estrogenic effects of subterranean clover (*Trifolium subterraneum*). Uterine maintenance in the ovariectomized ewe on clover grazing. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* 29, 249—253, 1951.
5. *Bickoff E. M., Booth A. N., Livingston A. L., Hendricson A. P., Lyman R. L.*: Determination of estrogenic activity in fresh and dried forage. *J. Anim. Sci.* 18, 1000—1009, 1959.
6. *Bickoff E. M., Booth A. N., Livingston A. L., Hendricson A. P.*: Observations on the effect of drying on estrogenic activity of alfalfa samples of varying maturity. *J. Anim. Sci.* 19, 745—753, 1960.
7. *Bickoff E. M., Booth A. N., Livingston A. L., Hendricson A. P.*: Estrogenic activity of fresh and dried red and subterranean clovers. *J. Anim. Sci.* 20, 133—136, 1961.
8. *Brandbury R. B., White D. E.*: Estrogens and related substances in plants. *Vitamins and Hormones*, 12, 207—233, 1954.
9. *Dohan F. C., Richardson E. M., Stribley R. C., Gyorgy P.*: The estrogenic effects of extracts of spring rye grass and clover. *J. Amer. vet. med. Ass.* 118, 323—324, 1951.
10. *Evans J. S., Varney R. F., Koch F. C.*: The mouse uterine weight method for the assay of estrogens. *Endocrinology* 28, 747—752, 1941.
11. *Kallela K.*: The incidence of plant oestrogens in Finnish pasture and fodder plants with special reference to their possible effects in cases of sterility in ruminants. Master's Thesis. College of Vet. Med. Helsinki 1964.
12. *Kitts W. D., Swierstra E., Brink V. C., Wood A. J.*: The estrogenlike substances in certain legumes and grasses. II. The effect of stage of maturity and frequency of cutting on the estrogenic activity of some forages. *Can. J. Anim. Sci.* 39, 158—163, 1959.
13. *Legg S. P., Curnow D. H., Simpson S. A.*: The seasonal and species distribution of oestrogen in British pasture plants. *Biochem. J.* 46, XIX—XX, 1950.
14. *Pieterse P. J. S., Andrews F. N.*: The estrogenic activity in alfalfa and other feedstuffs. *J. Anim. Sci.* 15, 25—36, 1956.
15. *Roliński Z.*: Badania nad aktywnością estrogenną mączki z lucerny. *Medycyna Wet.* 21, 275—276, 1965.
16. *Schoop G., Klette H.*: Oestrogenne in Futterpflanzen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 62, 461—463, 1955.

Adres autora: lek. wet. Zbigniew Roliński, Lublin, ul. Akademicka 11.

**ARCHIPOW N. J., BURCEW W. J., PICZUGIN L. M., KUSZNIER A. T.**: Morfologia procesu immunologicznego u świń szczepionych pko pomorowi (Morfologia immunnowo processa u świnię waksinowanych proti w czumy). *Wieterinaria (Moskwa)* 43, 2, 26—29, 1967.

Autorzy uodparniali warchlaki i odsadzone prosięta przy pomocy aerosolu (średnica cząstek = 18) rozpuszczonej w wodzie lapinizowanej suchej szczepionki. Czas ekspozycji — 4—7 minut. Odporność u warchlaków pojawiała się na 4 dzień, a u prosiąt na 6 dzień po szczepieniu, co odpowiadało okresowi najbardziej rozwiniętej reakcji morfologicznej i najwyższemu stężeniu we krwi gammaglobulin. Reakcja morfologiczna polegała na obrzęku i pyronofili cytoplazmy limfoblastów i kom. siateczki węzłów chłonnych, na wystąpieniu w płucach ognisk przepełnienia krwią kapilarów i obrzęku ich śródbłonna.

T. J.