

ANDRZEJ KRYŃSKI

Wpływ ostrej choroby popromiennej na poziom białka i frakcji białkowych osocza królików

Instytut Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynarii SGGW w Warszawie
Dyrektor: prof. dr J. MAZURCZAK

Zagadnienie wpływu promieniowania jonizującego na metabolizm związków białkowych znalazło ostatnio odbicie w szeregu monografiach i publikacjach (2, 5, 7, 8, 12, 16, 17). Z zagadnień omówionych w wyżej wymienionych pracach wynika, że promieniowanie jonizujące oddziałuje na strukturę białek na drodze bezpośredniej i pośredniej. Po naświetleniu organizmu dawkami subletalnymi i letalnymi występuje utrata hydrofilności, częściowa utrata antygenowych i enzymatycznych własności białek. Wydaje się, że radiochemiczne procesy zachodzące w wodzie są zasadniczym mechanizmem, poprzez który promieniowanie jonizujące działa na substancje organiczne. Nie wyklucza się jednak jonizacji złożonych białek (8).

Istnieje szereg poglądów na mechanizm wpływu promieniowania jonizującego na syntezę białka w ustroju. Romancew (12) stwierdza, że promieniowanie jonizujące w dawce 50—900 R hamuje syntezę białka w organizmie. Autor przypuszcza, że promieniowanie jonizujące w pierwszym rzędzie powoduje zaburzenia w syntezie DNA, RNA, a następnie zaburzenia w syntezie białek. Dancewicz (2) omawiając prace z ostatnich lat, związane z zagadnieniami syntezy białek, stwierdza istnienie różnic narządowych i różnic w inkorporacji aminokwasów do białek poszczególnych struktur komórkowych. Zwykle w początkowym okresie po napromieniowaniu mamy do czynienia ze zwiększeniem syntezy białka w narządach, w późniejszym z zahamowaniem syntezy i równoczesną syntezą białek nietypowych dla danej komórki.

Z omawianych informacji wynika, że zaburzenia syntezy białka są skutkiem rozprzężenia harmonijnej współpracy kwasów nukleinowych biorących udział w syntezie.

Badając białka metodami pośrednimi zanotowano zmiany jakościowe w składzie białek organizmu (12).

Promieniowanie jonizujące wpływa również na zmiany ilościowe w białkach krwi. Większość autorów notuje obniżenie stężenia białka całkowitego u napromieniowanych zwierząt. Jedynie Rusakow (13) notuje u królików napromieniowanych jednorazową dawką 800 R zwiększenie stężenia białka całkowitego surowicy w okresie trwania ostrej choroby popromiennej, natomiast przy naświetleniu małymi dawkami niezmienną ilość białka całkowitego.

We wszystkich cytowanych pracach z tego zakresu obserwuje się mimo różnych dawek pro-

mieni jonizujących u wszystkich napromieniowanych zwierząt spadek stężenia albumin oraz wzrost alfa i betaglobulin (1, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 16, 17). Notuje się odmienne zachowanie gamma-globulin w zależności od dawki, warunków napromieniowania i badanego okresu po napromieniowaniu. Po letalnych i subletalnych dawkach u szczurów, królików i ludzi obserwowano zmniejszenie stężenia gamma-globulin w osoczu (6, 8, 9, 13, 16, 17). Inni autorzy (1, 10) obserwowali u królików napromieniowanych dawkami 250, 300 i 600 R wzrost stężenia gamma-globulin. Zmniejszenie stężenia albumin w przebiegu choroby popromiennej związane jest przypuszczalnie ze zmniejszeniem szybkości przejścia tych białek do krwi z narządów, w których są syntetyzowane, zaburzeniem ich syntezy oraz zwiększonym wydalaniem ich przez nerki. Należy również zwrócić uwagę na utratę albumin do światła przewodu pokarmowego (17), wskutek uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego. Watterfors (16) zwraca uwagę na zahamowanie resorpcji aminokwasów, pogłębiającą się hipoalbuminemią i hipo-proteinemią.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 25 królikach białych piepelniańskich samcach o ciężarze w granicach od 2,6—3,8 kg (średnio ok. 3,1 kg), w wieku od 1—1,5 roku.

Zwierzęta pozostały na jednakowej diecie (siano łąkowe mieszane, owies, marchew), doświadczenia przeprowadzono po dwutygodniowym okresie adaptacyjnym. Do doświadczeń dopuszczono tylko zwierzęta klinicznie zdrowe. Napromieniowane zwierzęta badano w trzech grupach (po 6 królików), uśmiercając je przez wywołanie embolii powietrznej w 5-tym, 10-tym i 15-tym dniu po napromieniowaniu. Grupa kontrolna liczyła 7 królików.

Króliki napromieniowano promieniami Rentgena stosując aparat do rentgenoterapii Stabilijan firmy Siemens.

W czasie doświadczeń przestrzegano następujących warunków napromieniowania: napięcie lampy 200 kV, natężenie prądu 20 mA, filtracja promieni 1 mm Cu.

Dawkę DL 50/30 wybrano opierając się na badaniach Szulca (14) i kierując się koniecznością wywołania objawów ostrej choroby popromiennej we wczesnym i szczytowym okresie. Moc dawki wynosiła 33 R na minutę. Ogólna dawka wynosiła 910 R. Pomiar kontrolne dawki przeprowadzono uniwersalnym dawkomierzem Siemens. Odległość od głowicy lampy do płaszczyzny stołu wynosiła 81 cm.

Stężenie białka całkowitego oznaczano metodą biuretową wg. Gleissa i Hinsberga (3).

Rozdział białek przeprowadzono metodą elektroforezy bibułowej wg. Grassmanna i Hanniga (4) w modyfikacji Tomickiego (15).

Obliczenia statystyczne wykonano metodą analizy wariancji w układzie jednokierunkowym (11).

Omówienie wyników

Zestawienie średnich stężeń białka całkowitego oraz frakcji białkowych w osoczu badanych zwierząt przedstawiono w tab. 1. Zmiany w średnich stężeniach białka całkowitego charakteryzują się stopniowym spadkiem stężenia w osoczu zwierząt badanych w 5-tym, 10-tym i 15-tym dniu po napromieniowaniu. Stężenie białka całkowitego w grupie kontrolnej wynosi $6,46 \pm 0,15$ g%, w grupie badanej w 5-tym dniu po napromieniowaniu notuje się leżący na granicy istotności spadek stężenia, natomiast w grupach badanych w 10-tym i 15-tym dniu po napromieniowaniu wysokie istotne zmniejszenie stężenia w porównaniu ze stężeniem białka w grupie kontrolnej.

Tab. 1. Zestawienie średnich stężeń białka całkowitego i frakcji białkowych w osoczu królików

Nazwa frakcji	Średnie arytmetyczne i odchylenie standardowe $\bar{x} \pm Sx$				Wymierzalność immunologiczna (rodzica i 37)	Wzrost emerytalny (tytuł)
	grupa kontrolna	grupa badana w 5-tym dniu po napromieniowaniu	grupa badana w 10-tym dniu po napromieniowaniu	grupa badana w 15-tym dniu po napromieniowaniu		
Białko całkowite	$6,46 \pm 0,15$	$6,09 \pm 0,16$	$4,80 \pm 0,16$	$5,19 \pm 0,16$	0,46	2,33**
albuminy	$4,53 \pm 0,20$	$2,84 \pm 0,21$	$2,42 \pm 0,21$	$2,32 \pm 0,21$	0,60	7,40**
globuliny	$1,93 \pm 0,07$	$0,90 \pm 0,062$	$0,74 \pm 0,062$	$0,76 \pm 0,062$	roznie mieszane	7,20
globulina alfa	$0,73 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,061$	$0,68 \pm 0,061$	$0,83 \pm 0,061$	roznie mieszane	2,40
globulina beta	$1,20 \pm 0,11$	$1,46 \pm 0,12$	$0,95 \pm 0,12$	$1,29 \pm 0,12$	0,33	3,45*
frakcja amorficzna w grupie	7	6	6	6	Wzrost immunologiczny (rodzica i 37): F095:3.21 = 3,67 F099:3.21 = 4,87	

*Białko istotnych różnic, **różnice istotne, ***różnice wysoko istotne

Zmiany w stężeniu białka całkowitego w osoczu badanych zwierząt charakteryzują się stopniową hipoproteinemią. Można je tłumaczyć wpływem promieniowania jonizującego na syntezę kwasów nukleinowych, a następnie na syntezę białek. Niewykluczony jest również bezpośredni wpływ promieniowania na strukturę cząsteczek białkowych i białek enzymatycznych.

We frakcji albumin notuje się statystycznie istotny stopniowy spadek stężenia albumin w 5-tym, 10-tym i 15-tym dniu po napromieniowaniu. W grupie zwierząt badanych w 15-tym dniu po napromieniowaniu obserwuje się średnie stężenie albumin równe $2,32 \pm 0,21$ g% w porównaniu ze stężeniem albumin w grupie kontrolnej równym $3,53 \pm 0,20$ g%.

We frakcjach globulin alfa i beta nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian stężenia, natomiast stężenie gamma-globulin obniża się istotnie w osoczu zwierząt badanych w 10-tym dniu po napromieniowaniu (w szczytowym okresie choroby). W ostatnim badanym terminie tzn. w 15-tym dniu po napromieniowaniu notuje się powrót stężenia gamma-globulin do poziomu kontrolnego.

Notowany w doświadczeniach statystycznie istotny spadek stężenia albumin w osoczu zwierząt wszystkich badanych grup związany jest z zaburzeniami ich syntezy w narządach, zwiększonym wydalaniem przez nerki i przez przewód pokarmowy, a także przypuszczalnie ze zmianami w metabolizmie węglowodanów

i lipidów związanych kompleksowo z albuminami.

Obniżenie stężenia gamma-globulin w osoczu zwierząt badanych w 10-tym dniu po napromieniowaniu wiąże się z działaniem promieniowania jonizującego na układ limforetikularny i jest związane z zanikiem zdolności tworzenia przeciwciał.

Wydaje się, że powrót stężenia gamma-globulin w osoczu zwierząt badanych w 15-tym dniu po napromieniowaniu do stężenia charakterystycznego dla grupy kontrolnej jest połączony ze zmianą w układzie immunologicznym organizmu.

Wnioski

1. U królików w ostrej chorobie popromiennej występowało obniżenie stężenia białka całkowitego w osoczu.

2. W osoczu królików w przebiegu ostrej choroby popromiennej stwierdzono stopniowe obniżenie stężenia albumin w miarę rozwoju choroby, w stężeniu frakcji globulin alfa i beta nie obserwowano statystycznie istotnych zmian, a poziom gamma-globulin obniżył się istotnie w szczytowym okresie choroby popromiennej.

Piśmiennictwo

1. Abramoff P., Myung Moo Choe: Radiation Res. 20, 658, 1963.
2. Danczewicz A. M.: Postępy Techniki Jądrowej. Dodatek — Seria Radiobiologia-Medycyna. Nr 23, 1967.
3. Gleiss J., Hinsberg K.: Zeitschrift f.d. Ges. Exp. Med. 116, 599, 1951.
4. Grassmann W., Hannig K.: Z. Ph. Chem. 290, 1, 1952.
5. Hedi Firtz-Niggli.: Radiobiologia, PWN, 1965.
6. Kollmorgen G. M., Osborne J. W.: Radiation Res. 22, 206, 1964.
7. Kuzin A. M.: Radiacjonnaja biochemija, Izdatielstwo Akademii Nauk SSSR, 1962.
8. Lipkan N. F.: Osnovy radiacjonnoj biologii i biochimii, Zdorowja, 1969.
9. Luzzo A. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y., 116, 769, 1964.
10. Nikolajew A. L., Sulejmanowa G. S., Muchtarowa F. G.: Radiobiologija. 7, 48, 1967.
11. Okta W.: Elementy statystyki matematycznej i metoda doświadczalnictwa, PWN, 1965.
12. Romancew E. F., Koszczenko N. N., Blochina W. D., Filipowicz I. W.: Postępy Techniki Jądrowej, Dodatek, Seria Radiobiologia-Medycyna, 40, 1969.
13. Rusakow A. B., Wajner Z. Ja.: Med. Radiobiologija. 11, 55, 1966.
14. Szulc M.: Postępy Techniki Jądrowej. Dodatek. Seria Ochrona przed promieniowaniem, 40, 1967.
15. Tomicki Z.: Polskie Arch. Wet. 9, 701, 1966.
16. Watterfors J., Liljedahl S. O., Plantin L. O., Brike G.: Acta Med. Scand. 177, 227, 1965.
17. Witschi H. P., Barandum S., Cottier H.: Schweiz. Med. Wochenschr. 92, 104, 1962.

Adres autora: Andrzej Kryński, Warszawa 1, ul. Wiejska 9 m. 70.

Крынский А. — Влияние острой лучевой болезни на уровень белка и белковых фракций в плазме крови кроликов.

Исследования провели на 25 кроликах самцах, облученных лучами Рентгена. Общая доза (DL 50/30) равнялась 910R, напряжение тока 200 кВ, сила, тока 20 мА, фильтр 1 мм Cu. Концентрацию полного белка плазмы крови исследовали бюретовой реакцией, концентрацию белковых фракций — методом бумажной электрофорезы. У больших животных наблюдали статистически существенное понижение уровня полного белка плазмы крови. Установили что концентрация альбуминов в острой лучевой болезни понижается: концентрация

гаммаглобулинов понижается в кульминационном пункте заболевания. Статистически существенных изменений в концентрации альфа и бета глобулинов не отмечали.

Kryński A. — **The influence of acute radiation sickness on the level of protein and proteinic fractions of plasma in rabbits.**

The investigations were carried out on 25 male rabbits irradiated by x-rays. The total irradiating dose (DL50/30) was 910 R. The animals were irradiated un-

der 200 kV, 20 mA, filter Cu 1 mm. The concentration of total protein was determined by the biuret method, the level of individual protein fractions was estimated on paper electrophoretically. In sick animals there was observed statistically significant decrease of plasma total proteins. The level of albumins in acute radiation sickness diminished, the concentration of gamma globulins decreased in the peak period of the disease. There was not observed statistically significant changes in the concentration of alfa and beta globulins.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

KRYSTYNA WAWRZKIEWICZ

Lublin

Ronienia zwierząt na tle grzybiczym

Pierwsze przypadki ronień o etiologii grzybiczej u bydła były opisywane już przed wielu laty.

W ostatnim dziesięcioleciu częstość ich występowania, zakres gospodarzy i zakres gatunków grzybów związanych z chorobą poważnie się zwiększyły.

Rozprzestrzenienie schorzenia

Rozpoznanie laboratoryjne poronień na tle grzybiczym zależy w znacznej mierze od rodzaju pobranego materiału i metody badania. Wg Austwick'a (3) badanie mikrobiologiczne materiału łożyskowego daje ok. 3-krotnie więcej wyników pozytywnych niż badanie tkanki płodu i zawartości jego żołądka. Podobne obserwacje opublikował Hillman (21). Jednak w związku z możliwością przypadkowego zakażenia próbek grzybami potencjalnie chorobotwórczymi, diagnostyka schorzenia nie powinna polegać wyłącznie na hodowli zarazka.

Częstość rozpoznawania ronień na tle grzybiczym w różnych krajach kształtuje się rozmaicie, jednak ogólnie przyjmuje się, że straty gospodarcze związane z tym schorzeniem są wszędzie dość znaczne. W Anglii i Walii w latach 1959—1966 odsetek ronień o etiologii grzybiczej stanowił 13,4—24,9 wszystkich poronień (24). W NRF (48) ok. 9% przypadków poronień było spowodowane przez grzyby. W Holandii Dijkstra (15) przebadła materiał pochodzący z 7683 poronionych płodów i w 99 przypadkach izolował z nich *Aspergillus fumigatus*; Spanoghe (42) stwierdził obecność grzybów w 7 przypadkach na 110 badanych łożysk. Na Węgrzech Aldasay i Hajdu (2) wykazali, że na 1315 przypadków ronień 20 spowodowanych było przez grzyby. Na Ukrainie w jednym okresie jesienno-zimowym aż

56% wszystkich poronień wywołanych było przez *Aspergillus* (43). W Stanach Zjednoczonych w ciągu 27 ostatnich lat, ronienia na tle grzybiczym wynosiły rocznie od 0—16,4% ogółu poronień (21). W Tasmanii ustalono, że ok. 10% poronień stanowią ronienia o etiologii grzybiczej (31) i są ok. 5-krotnie częstsze od ronień na tle brucelozy.

O przypadkach poronień grzybiczych doniesiono również z USSR (9, 27), z Rumunii (34), z Szwajcarii (32), z Irlandii (50), z Nowej Zelandii (11), z Indii (5) i z Hong-Kongu (45).

Ronienia grzybicze aczkolwiek stanowią poważny problem głównie u bydła, to jednak mogą być czynnikiem przyczynowym ronień i u innych zwierząt. Mahaffey i Adam (28) wspominają, że ok. 10% poronień u kłaczy w Stanie Kentucky było związane z grzybami. O dwóch przypadkach grzybiczych poronień u kłaczy donosi również Weikl (48). W Rumunii blisko 4% ronień u owiec ma być wywołane przez *Aspergillus fumigatus* (34). Opisano również ronienia grzybicze u świń (1, 8, 30, 33).

Etiologia schorzenia

W 1959 r. Ainworth i Austwick (1) wymie-nili 17 gatunków grzybów odpowiedzialnych za ronienia u zwierząt. W ciągu ostatnich lat do grupy tej dołączono nowe gatunki i obecnie mówi się o ok. 40 różnych gatunkach grzybów związanych etiologicznie z ronieniami u zwierząt.

Zarazki te w zależności od źródła pochodzenia można podzielić na trzy zasadnicze grupy.

Pierwsza grupa obejmuje grzyby stwierdzone głównie w sianie i słomie i zawiera gatunki niewątpliwie najczęściej izolowane z przypadków ronień grzybiczych. Należą tutaj rodzaje: