

Вадура Р., Сембеда Я., Утзиг Ю. — **Предварительные наблюдения за результатами прикрепления ортопедических подков у крупного рогатого скота.**

Авторы пытались заменить традиционный метод ковки больных копыт у крупного рогатого скота приклеиванием подков при помощи пластмасс. Клей чехословацкой продукции Vetakryl применяли у 15 голов крупного рогатого скота в случаях болезни пальцев требующей уменьшения нагрузки больной ноги.

Проведенные наблюдения и полученные результаты указывают, что клей Vetakryl является хорошим искусственным клеем позволяющим на прочное прикрепление подковы к копыту.

Badura R., Siembieda J., Utzig J. — **Preliminary observations on the use of glue to orthopaedic fixation of horseshoes in cattle.**

There were carried out some attempts to substitute traditional horse-shoeing diseased shoes by fixation of horseshoes by means of plastics. The authors applied the glue „Vetakryl” (made in Czechoslovakia) in 15 animals. The horse-shoeing was performed in the individuals with ill digits in which it was advisable to relieve a diseased hoof. The results obtained indicated that „Vetakryl” was a good glue and enabled constant fixation of the hoof.

KAZIMIERZ MARKIEWICZ

Olsztyn

Enzymy komórkowe wątroby

Oznaczanie aktywności enzymatycznej w płynach ustrojowych stanowi metodę pośredniej oceny stanu uszkodzenia komórki. Bliższe i bardziej dokładne poznanie zmian patologicznych, przebiegających w ustroju na poziomie molekularnym, daje określanie aktywności enzymów w tkankach i komórkach (6, 12). To bezpośrednio badanie przeprowadzane jest na materiale pobieranym w drodze biopsji lub materiale z narządu wyizolowanego. Umożliwia ono ocenę stopnia uszkodzenia poszczególnych struktur komórkowych i pozwala na śledzenie dynamiki i mechanizmu powstawania zaburzeń metabolicznych, przebiegających w badanym narządzie. Oznaczanie aktywności enzymów w komórce znajduje szczególną przydatność i zastosowanie w stanach uszkodzenia wątroby.

Komórka miąższowa wątroby (hepatocyt) oddzielona jest od środowiska zewnętrznego błoną utworzoną z lipidów i białka, posiadającą właściwości przepuszczania selektywnego potrzebnych i usuwania zbędnych substancji na drodze dyfuzji lub transportu aktywnego (11, 16). Wnętrze komórki wypełnia jądro otoczone błoną i cały szereg struktur błoniastych, określanych jako system wakuolarny cytoplazmy. Należą tu: układ Golgiego, siateczka endoplazmatyczna gładka i ziarnista, mitochondria i lizozomy (11). Struktury te powstają w wyniku zróżnicowania się cytoplazmy. Pozostała zawartość komórki miąższowej, stanowiąca układ koloidalny z wodą jako fazą rozpraszającą oraz cukrami, tłuszczami, RNA, białkami w tym i enzymami jako fazą rozproszoną, określana jest mianem matrix endoplazmatyczna (6, 11).

Z komórką miąższową wątroby, jej błoną, cytoplazmą i organellami powiązane są określone enzymy. Skład enzymatyczny poszczególnych struktur uwarunkowany jest rolą, jaką pełnią one w komórce, a bliższa ich lokalizacja przedstawia topografię komórkową enzymów. W błonie komórkowej daje się stwierdzić aktywność fosfohydrolazy ATP — 3.6.1.3, alkalicznej i kwaśnej fosfatazy — 3.1.3.1, 3.1.3.2, 5-nukleotydazy — 3.1.3.5, glukozo-6-fosfatazy — 3.1.3.9 i nieswoistych esteraz (1, 13). Skład enzymatyczny jądra, jąderka i błony jądrowej, stanowiących frakcję jądrową związany jest przede wszystkim z glikolizą, stanowiącą główne źródło energii. Zgrupowane są tu więc enzymy

cyklu glikolitycznego — aldolaza fruktoza-dwufosforanowa — 4.1.2.13, hydrolaza fosfopirogronianowa i dehydrogenaza aldehydu fosfoglicerynowego — 1.2.1.13 (19). W jądrze znajdują się również enzymy decydujące o metabolizmie kwasów nukleinowych jak nukleotydylotransferaza DNA — 2.7.7.7 i uczestniczące w przemianie nukleozydów — dezaminaza adenozynowa — 3.5.4.4, fosfataza nukleozydowa, dezaminaza guaninowa — 3.5.4.3 oraz 5-nukleotydaza (9). Skład enzymatyczny jąderka nie został jeszcze dokładnie poznany. Stwierdzono w nim aktywność fosfatazy nukleotydowej i enzymów syntetyzujących NAD (6).

Mitochondria, mające kształt wydłużonych pęcherzyków o drobnoziarnistym wnętrzu i podwójnej błonie, występują w zdrowej komórce wątrobowej w ilości znacznie większej niż w innych typach komórek. Stanowią one jeden z najczulszych wskaźników uszkodzenia hepatocytów (8). Zachodzące w nich zmiany — rozpad, pęcznienie, przekształcenie w ziarnistość hialinowe, mogą być w pewnych granicach odwracalne (11). Funkcja mitochondriów polega głównie na przetwarzaniu substancji pokarmowych w energię chemiczną i gromadzeniu jej w wysokoenergetycznych wiązaniach ATP (14, 15). Prawidłowy przebieg tych procesów zapewniają między innymi enzymy, których ze względu na różnorodność pełnionych funkcji mitochondria posiadają duży zestaw. Najbardziej swoistym enzymem homogenicznej frakcji mitochondrialnej jest dehydrogenaza glutaminianowa — 1.4.1.2. Enzym ten katalizuje reakcję utleniania kwasu glutaminowego do kwasu alfa-imino-glutarowego. W zatruciach i w schorzeniach wątroby o przebiegu ostrym ma miejsce spadek aktywności dehydrogenazy glutaminianowej w omawianej frakcji. W ciężkich stanach uszkodzenia komórek miąższowych enzym ten przedostaje się do krwi. Z enzymów związanych z mitochondriami duże znaczenie diagnostyczne w chorobach wątroby posiada także aminotransferaza asparaginianowa — 2.6.1.1 i alaninowa — 2.6.1.2 uczestniczące w przemianie azotowej. W stanach uszkodzenia wątroby, w tym i na tle intoksykacji, aktywność wymienionych enzymów we frakcji mitochondrialnej wyraźnie spada (6). W mitochondriach występuje ponadto szereg enzymów zaangażowanych w cykl kwasów trójkarboksylowych jak dehydrogenaza izocytrynianowa — 1.1.1.4, dehydrogenaza jablczanowa — 1.1.1.37 i hydratataz fumaranowa — 4.2.1.2, enzymy utleniania kwasów tłuszczowych, enzymy należące do łańcucha oddechowego i inne (4, 5, 19). W stanach chorobowych wątroby aktywność wymienionych enzymów w tkance wątrobowej ulega obniżeniu.

W lizozomach, tworach protoplazmatycznych przypominających budową i kształtem mitochondria, zawarte są enzymy o właściwościach litycznych (8, 11). Lizozomy zawierają około 30 enzymów hydrolizujących (6, 19). Należą do nich między innymi fosfataza kwaśna, katepsyna — 3.4.4.9, 3.4.4.23 i rybonukleaza — 2.7.7.17. Enzymy znajdujące się w lizozomach trawia substancje dostające się tu w wyniku fagocytozy lub pinocytozy, a w stanach chorobowych, kiedy po uszkodzeniu błony lizozomalnej przedostają się do cytoplazmy, także części innych struktur wewnątrzkomórkowych. Od właściwości litycznych tych enzymów pochodzi nazwa lizozomów.

Układ Golgiego stanowiący system błon zbliżonych w swej budowie do błony podstawowej, siateczka endoplazmatyczna gładka i ziarnista, rybozomy i inne struktury błoniaste, określane są jako frakcja mikrozomalna. Jest to heterogeniczna grupa tworów komórkowych, wyodrębnianych na drodze frakcjonowanego wirowania tkanki wątrobowej. Biorą one udział w biosyntezie fosfatydów, kwasu askorbinowego, glukuronianów i steroidów oraz w szeregu innych funkcji. Układ Golgiego odgrywa też prawdopodobnie pewną rolę w gospodarce wodno-elektrolitowej komórki (6). Procesy powyższe wiążą się z obecnością w wymienionych strukturach różnego rodzaju enzymów. Wg Dixona i Webba (3) do najobficiej występujących w tej frakcji należy cholinoesteraza — 3.1.1.8, glukozo-6-fosfataza i esteraza fenylooctanowa. Cholinoesteraza jest enzymem o małej swoistości. W wielu procesach chorobowych wątroby aktywność tego enzymu w tkance wątrobowej ulega podwyższeniu, przy czym obserwuje się pewną korelację tego stanu ze stopniem zwyrodnienia białkowego komórki wątrobowej. Glukozo-6-fosfataza, występująca prawie wyłącznie w wątrobie zespolona z frakcją mikrosomalną, odgrywa dużą rolę w regulacji poziomu glukozy we krwi (3, 6, 19). W chorobach wątroby, szczególnie w stłuszczeniu i marskości, aktywność tego enzymu w tkance wątrobowej jest obniżona. Oznaczanie jej w punktatach wątroby ma duże znaczenie rozpoznawcze. Esteraza fenylooctanowa, występująca głównie w frakcji mikrosomalnej hydrolizuje octan fenylu. W zatruciach obserwuje się wyraźny spadek aktywności tego enzymu w tkance wątrobowej. Aktywność enzymatyczna związana z układem Golgiego jest stosunkowo niska. Daje się tu stwierdzić jedynie czynność kwaśnej fosfatazy, pirofosfatazy tiaminy — 2.5.1.3 i dwufosfatazy nukleozydowej — 3.6.1.6.

We frakcji mikrosomalnej obserwuje się ponadto aktywność esterazy witaminy A — 3.1.1.12, esterazy cholesterolowej — 3.1.1.13, fosfatazy alkalicznej, arginazy — 3.5.3.1, glukuronidazy — 3.2.1.31, acetylocholinoesterazy — 3.1.1.7 i innych (3, 7). Enzymy te nie wykazują jednak

w swej aktywności charakterystycznych zmian w stanach chorobowych i nie mają dotychczas większego praktycznie znaczenia diagnostycznego.

Cytoplazma obejmuje błoniaste struktury — ergastoplazmę z rybosomami i siateczką endoplazmatyczną gładką. Ergastoplazma lokalizuje enzymy biorące udział w detoksykacji, rybosomy, stanowiące część składową ergastoplazmy — enzymy biorące udział w syntezie białek oraz enzymy hydrolizujące jak cholinoesteraza i esteraza cholesterolowa, a siateczka endoplazmatyczna gładka — glukozo-6-fosfatazę, uczestniczącą w procesach glikoneogenezy i glikogolizy.

Enzymy cytoplazmatyczne jako luźno występujące w komórce pojawiają się we krwi już przy niewielkich uszkodzeniach błony komórkowej, natomiast enzymy związane ze strukturami subkomórkowymi, przede wszystkim mitochondrialne i lizozomalne, przy znacznych dopiero uszkodzeniach lub po śmierci biologicznej komórki wątrobowej (6).

W komórce mięszkowej wątroby, podobnie jak w komórkach innych narządów, można badać aktywność enzymów bezpośrednio metodami histochemicznymi oraz metodami biochemicznymi po uprzednim zastosowaniu specjalnej techniki wirowania (6, 11, 12). Ta ostatnia metoda polega na frakcjonowaniu komórki i biochemicznym następnie oznaczaniu aktywności enzymatycznej. Wg metody podanej przez Robertis i wsp. (11) punktata lub wycinek wyizolowanej wątroby przemywa się lodowato zimnym roztworem soli fizjologicznej, a następnie 0,25 molowym roztworem sacharozy w celu usunięcia krwi. Oczyszczoną w ten sposób tkankę wątrobową przeciska się przez stalowe sitko lub rozdrabnia mechanicznie na innej drodze i homogenizuje w 0,25 molowym roztworze sacharozy. Tak uzyskany homogenat poddaje się wirowaniu przy 600—800 G×10 min. Na dno próbówki opada wówczas frakcja jądrowa, jako najcięższa frakcja subkomórkowa, zawierająca jądro, jąderko i błonę jądrową. Odciągnięty z nad osadu supernatant wiruje się ponownie przez 10 min. przy 15000 G dla otrzymania frakcji mitochondrialnej, przy 56000 G×10 min. — frakcji lizozomalnej i 103000 G×40—60 min. frakcji mikrosomalnej. Zastosowanie specjalnych technik pozwala na oddzielenie od siebie poszczególnych elementów, tworzących frakcję mikrosomalną. Ostateczny supernatant odpowiada cytoplazmie.

Wirowanie frakcjonowane winno odbywać się w temperaturze 0—4°C, przy czym najważniejsze jest otrzymywanie z jednego punktu jednej tylko frakcji, która w takich warunkach wykazuje zwykle największą jednorodność. Stosowane przez niektórych autorów różne modyfikacje frakcjonowania komórki wątrobowej

dotyczą najczęściej chemicznego składu roztworu przeznaczonego do homogenizacji (2, 10, 17). Zakłada się bowiem ogólnie, że odpowiednio dobrane roztwory mają tworzyć środowisko zbliżone do występującego *in vivo* i zapobiegać uszkodzeniu poszczególnych organelli komórkowych.

Bezpośrednie oznaczenia aktywności enzymatycznej w komórkach mięsnych wątroby, mimo niewątpliwej wartości diagnostycznej tej metody, nie jest dotychczas rozpowszechnione. Składają się na to zapewne trudności w pobieraniu materiału punkcyjnego, większe niż przy pobieraniu krwi i otrzymywaniu surowicy oraz bardziej skomplikowane metodyka oznaczania aktywności enzymów w takim materiale.

Piśmiennictwo

1. Baker P. F.: Biochim. biophys. Acta 75, 287, 1963.
2. Campbell P. N., Kernot B. A.: Biochem. J. 82, 262, 1962.
3. Dixon M., Webb E. C.: Enzymes. London, Longmans, 1964.
4. Grenn D., Hatefi I.: Science 13, 113, 1961.
5. Hoppel Ch., Cooper C.: Biochem. J. 107, 367, 1968.
6. Krawczyński J.: Diagnostyka enzymologiczna w medycynie praktycznej. PZWL 1970.
7. Niemierko S.: Post. Bioch. 11, 245, 1965.
8. Pawlikowski T.: Histologia. PZWL 1969.
9. Reis J. L.: Post. Bioch. 4, 95, 1958.
10. Roodyn D. B., Freeman K. B., Tata J. R.: Biochem. J. 94, 628, 1965.
11. Robertis E. D. P., Nowiński W. W., Saez F. A.: Cytologia. PWN 1969.
12. Szczeklik E.: Enzymologia kliniczna. PZWL 1967.
13. Wiswell J. G., Braverman M. G.: Endocrinol. 61, 153, 1957.
14. Wojtczak L.: Post. Bioch. 10, 43, 1964.
15. Wojtczak W., Wojtczak K.: Post. Bioch. 11, 551, 1965.
16. Zakrzewska-Hentz A.: Post. Bioch. 11, 161, 1965.
17. Zamecznik P., Keller E. B.: J. Biol. Chem. 209, 337, 1954.
18. Zagórski W.: Post. Bioch. 11, 145, 1965.
19. Zydowo M.: Post. Bioch. 8, 166, 1962.

Adres autora: prof. dr Kazimierz Markiewicz, 10-957 Olsztyn-Kortowo.

WŁODZIMIERZ A. GIBASIEWICZ, KAZIMIERZ GIBASIEWICZ
Ostrów Wielkopolski

Ocena skuteczności Haloxonu w leczeniu askarydiozy i ezofagostomatozy świń

W związku z systematycznym rozwojem hodowli wielkotowarowej w ostatnim okresie zwraca się szczególną uwagę na nematodozy żołądkowo-jelitowe u świń (*Oesophagostomum dentatum*, *Ascaris suum*, *Strongyloides ransomi*, *Trichocephalus suis*). Na rynku krajowym pojawiło się kilka nowych preparatów przeciw nicieniom: Suiverm i Helmintazol, które obok już od dawna stosowanych (fluorek i krzemofluorek sodu, siarczek węgla, fiolet goryczki, sole piperazyny, fenotiazyna) znacznie rozszerzyły możliwość skutecznej ingerencji odpowiednim lekiem z wyboru. Mimo, że opracowano już wiele nowoczesnych leków, na rynkach zagranicznych pojawiają się stale nowe, które cechuje stosunkowo mała toksyczność oraz wysoka, wybiórcza skuteczność w zwalczaniu co najmniej dwóch gatunków nicieni.

W Wielkiej Brytanii (również w Nowej Zelandii, Australii, Afryce, w Europie zachodniej, w Stanach Zjednoczonych) stosowany jest przeciw nicieniom żołądkowo-jelitowym u koni, cieląt, owiec i świń Haloxon (0,0-di-/2-chloro-ethyl/0-/3-chloro-4-methyl coumarin-7yl/phosphate) produkcji Cooper McDougall and Robertson Ltd., o którym liczni autorzy (1—5, 7, 10—15) wyrażają się z większym lub mniejszym uznaniem.

Celem własnych badań było porównanie wyników osiąganych przez angielskich badaczy oraz poznanie skuteczności Haloxonu przy zwalczaniu *Ascaris suum* i *Oesophagostomum* sp. w Polsce.

Material i metody

Badanie przeprowadzono w dwóch gospodarstwach rolników indywidualnych. Pierwsze w miejscowości L. na 30 szt. świń o wadze ok. 45 kg; drugie w miejscowości S. na 42 szt. o wadze ok. 51 kg. Stopień zarażenia nicieniami żołądkowo-jelitowymi ustalano na podstawie badań koprologicznych metodą flotacyjną Fülleborna (16). Próby kału pobierano z prostnicy rano od wszystkich sztuk. Kał badano dwukrotnie: 1 × przed odrobaczeniem 2 × w 7 dni od chwili zadania leku. Wyniki badań koproskopowych przedstawia tab. 1 i 3. W doświadczeniu stosowano wraz z paszą

Tab. 1. Wyniki badań koproskopowych przed odrobaczeniem

Gospodarstwo w powiecie	Ilość szt. badanych	Ilość prób dodatnich	% zarobaczenia	<i>Ascaris suum</i>		<i>O. dentatum</i>	
				szt.	%	szt.	%
L-Ostrów Wlkp.	30	30	100	27	90	30	100
S-Krotoszyn	42	39	92,8	4	10,2	38	97
Razem	72	69	96,4	31	50,1	68	98,5

Haloxon w ilości 40 mg/kg c.c. W celu określenia efektu terapeutycznego stosowanego środka dokonano pomiarów dziennych przyrostów wagowych. 19 szt. wybranych świń ważono w ciągu 12 dni tzn. przez 6 dni przed i 6 dni po odrobaczeniu. Wyniki zawiera tab. 2.

Tab. 2. Wyniki kontroli przyrostów wagowych u świń

Gospodarstwo w powiecie	Ilość szt. badanych	Średnia waga 1 szt.	Średni dzienny przyrost przed odrob. po odrob.		Różnica przyrostów dziennych w g/1 szt.
L-Ostrów Wlkp.	10	45	412	560	148
S-Krotoszyn	9	51	495	702	206
Razem	19	48	454	631	177