

może świadczyć o mniejszej zawartości minerałów w badanych kościach.

2. Zwiększona ponadnormatywnie podaż składników pokarmowych rzadko powoduje istotne statystycznie zmiany średnich wartości wskaźników korowych.

3. Różnica wieku wynosząca 1 miesiąc jest zbyt mała dla stwierdzenia różnic w wartościach wskaźników korowych w większości badanych kości długich.

4. Wskaźnik korowy może stanowić prostą metodę określania stanu układu kostnego przy różnych sposobach żywienia zwierząt hodowlanych.

Piśmiennictwo

1. Bayley H. S., Thomson R. G.: J. Anim. Sci. 28, 2, 1969.

2. Bugyi B.: Anat. Anz. 116, 387, 1965.

3. Nutrient Requirements of Swine. Nat. Acad. Sci., Washington, D. C., 1973.

4. Ryś R.: Normy żywienia zwierząt gospodarskich. PWRiL, Warszawa, 1981.

5. Skawina A., Wyczółkowski M.: Folia Morphol. 46, 9, 1987.

6. Skawina A., Mazurkiewicz S., Litak A., Wyczółkowski M.: Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol. 52, 2, 1987.

7. Underwood E. J.: Żywienie mineralne zwierząt. PWRiL, Warszawa, 1971.

8. Virtama P., Mahonen H.: Brit. J. Radiol. 33, 385, 1960.

9. Virtama P., Telkka A.: Brit. J. Radiol. 37, 417, 1962.

10. Wolański N.: Acta Anat. 67, 74, 1967.

11. Wyczółkowski M., Skawina A.: Chir. Narz. Ruchu Ortop. Pol. 52, 458, 1987.

12. Wyczółkowski M.: Ocena osteoporozy kości długich na podstawie wskaźnika korowego. Praca dokt., AM Kraków, 1989.

Adres autora: dr med. Marek Wyczółkowski, ul. Borsucza 6, 30-408 Kraków

EWA KACZMARCZYK, KRZYSZTOF WALAWSKI

Związek między aktywnością kwaśnej fosfatazy leukocytów krwi i poziomem wybranych wskaźników hematologicznych i immunologicznych u młodych buhajów*)

Instytut Genetyki i Metod Doskonalenia Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR-T,
10-937 Olsztyn-Kortowo

Summary

The affinity between leukocyte acid phosphatase activity and the level of selected haematological and immunological indices in young bulls

The study was performed on 47 young bulls originating from one herd. For analysis the blood was taken four times every three months beginning from the second or third month of the animals' life. Statistically significant positive correlation was found between acid phosphatase activity in granulocytes and the number of neutrophils and eosinophils, whereas negative correlation was stated between the number of lymphocytes and the results of NBT reduction.

Kwaśna fosfataza (FK) jest ważnym składnikiem wyposażenia enzymatycznego komórek układu białokrwinkowego. Właściwości i funkcje tego enzymu są u zwierząt gospodarskich mało poznane. Wiadomo, że kwaśna fosfataza leukocytów krwi u bydła jest enzymem niejednorodnym. Izoenzym o masie cząsteczkowej ok. 42 tys. daltonów i optimum pH 5,8 wykazuje wiele wspólnych cech z kwaśną fosfatazą występującą w surowicy. Może to świadczyć o jej pochodzeniu z leukocytów, z których jest prawdopodobnie uwalniana podczas fagocytozy (1). Przeważająca część FK (ok. 80% ogólnej aktywności) o wyższej, lecz nie określonej masie cząsteczkowej oraz optimum działania w pH 4,9, została wykryta również w mleku. Aktywność tego izoenzymu wykazuje związek z liczbą komórek somatycznych w mleku i jest wyższa u krów chorych na mastitis (2).

W leukocytach krwi bydła wykryto cztery formy elektroforyczne FK, tworzące 6 kombinacji fenotypowych (5). Najczęściej spotykane fenotypy A i AB są uwarunkowane genetycznie parą alleli autosomalnych (6). U cieląt fenotyp A występuje częściej, niż u zwierząt dorosłych, u krów znacznie częściej, niż u buhajów (5). Pozostałe cztery fenotypy występują bardzo rzadko; obecność ich zarejestrowano tylko u 3,4% pogłowia bydła rasy czarno-białej.

*) Badania finansowane w ramach programu RPBR-II-24 koodynowanego przez Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych w Lublinie.

Biologiczna rola FK oraz jej lokalizacja w komórkach pełniących istotne funkcje obronne skłoniły do podjęcia badań mających na celu określenie zależności między aktywnością tego enzymu w leukocytach i poziomem wybranych wskaźników charakteryzujących stan czynnościowy układu białokrwinkowego. W badaniach uwzględniono ogólną liczbę leukocytów, skład białokrwinkowy, indeks fagocytarny i test redukcji NBT.

Materiał i metody

Badaniami objęto 47 klinicznie zdrowych, młodych buhajów rasy czarno-białej, utrzymywanych w Centralnej Wychowalni Buhajów w Wopławkach, woj. olsztyńskie. Zwierzęta żywione były standardowo, zgodnie z instrukcją odchowu buhajów hodowlanych. Krew do badań pobierano z żyły jarzmowej, 4-krotnie w odstępach 3-miesięcznych, począwszy od 2—3 miesiąca życia. Jako antykoagulant stosowano heparynę.

Aktywność FK w leukocytach oznaczano metodą cytochemiczną (7), w skali pięciostopniowej, wzorując się na ocenie aktywności alkalicznej fosfatazy w granulocytach proponowanej przez Kaplowa (10). Aktywność enzymu wyrażano za pomocą wskaźnika „total score” będącego sumą iloczynów stopnia i liczby komórek wykazujących zróżnicowaną intensywność reakcji.

Aktywność metaboliczną granulocytów oraz ich zdolność do wewnątrzkomórkowego trawienia oceniono stosując test redukcji błękitu nitrotetrazoliowego (NBT) (13). Przyrost ekstynkcyjny przeliczano na bezwzględną ilość formazanu uwalnianego podczas reakcji enzymatycznej; w obliczeniach uwzględniano również liczbę neutrofilów i czas inkubacji, a wyniki przedstawiono w μg formazanu (granulocyty objętymochłonne $\times 10^4/\text{min}$).

Ogólną liczbę leukocytów oznaczano aparatem Picoscale, natomiast leukogramy sporządzano z rozmazów barwionych metodą Pappenheima (15).

Aktywność fagocytarną oceniano w pełnej krwi metodą próbkwową (16), stosując zawiesinę gronkowca złocistego w zbuforowanym roztworze fizjologicznym NaCl (PBS) w ilości ok. 1 mld na 1 ml. Indeks fagocytarny ustalono dokonując odczytu w 50 kolejno napotkanych komórkach żer-nych.

Wyniki opracowano statystycznie uwzględniając wartości średniej arytmetycznej i odchylenia standardowego, natomiast związek analizowanych cech weryfikowano na podstawie wartości współczynnika korelacji.

Wyniki i omówienie

W tabeli 1 przedstawiono dynamikę zmian poziomu badanych wskaźników hematologicznych i immunologicznych w kolejnych stadiach wzrostu młodych buhajów. Zarejestrowano stosunkowo dużą liczbę leukocytów we krwi ($12,4 \times 10^9/l - 15,0 \times 10^9/l$), natomiast pozostałe wskaźniki mieszczą się w granicach normy fizjologicznej (14, 15).

Stwierdzono regularną tendencję wzrostu liczby neutrofilów i eozynofiliów oraz tendencję spadku liczby bazofiliów. Aktywność FK w granulocytach i limfocytach bardzo wyraźnie wzrasta w III i IV terminie badań. Wartość indeksu fagocytarnego jest ustabilizowana (28,6—30,0), natomiast wyniki testu redukcji NBT są wyrównane w I, II i III terminie badań oraz nieco wyższe u zwierząt najstarszych (IV termin badań). Uwzględniając jednak tendencję zmian leukogramu (wzrost liczby neutrofilów) największą ilość uwalnianego formazanu w przeliczeniu na liczbę neutrofilów i 1 minutę reakcji enzymatycznej stwierdzono u buhajków

Tab. 1. Wyniki badań wskaźników hematologicznych i immunologicznych

Wskaźniki	Wiek badanych zwierząt - miesiące (terminy badań)				x ± s			
	2-3 (I)	5-6 (II)	8-9 (III)	11-12 (IV)	2-3 (I)	5-6 (II)	8-9 (III)	11-12 (IV)
Leukocyty ($10^9/l$)	12,7	12,4	15,0	13,8	12,7	12,4	15,0	13,8
Limfocyty ($10^9/l$)	3,68	3,46	4,50	4,10	3,68	3,46	4,50	4,10
Neutrofile ($10^9/l$)	2,65	1,80	2,90	3,69	2,65	1,80	2,90	3,69
Eozynofile ($10^9/l$)	0,03	0,07	0,17	0,05	0,03	0,07	0,17	0,05
Bazofile ($10^9/l$)	0,15	0,14	0,11	0,09	0,15	0,14	0,11	0,09
Monocyty ($10^9/l$)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
FK "total score"	6,6	4,5	8,7	3,9	6,6	4,5	8,7	3,9
- w limfocytach	20,9	9,5	25,8	9,1	20,9	9,5	25,8	9,1
- w granulocytach	27,5	9,4	34,5	8,3	27,5	9,4	34,5	8,3
Indeks fagocytarny	29,1	4,1	28,6	3,0	29,1	4,1	28,6	3,0
Redukcja NBT	32,9	4,4	33,5	4,5	32,9	4,4	33,5	4,5
- μg formazanu / 10^4 neutrof. / min.	0,27	0,22	0,19	0,10	0,27	0,22	0,19	0,10

badanych w wieku 2—3 miesięcy (I termin).

W tab. 2 zestawione zostały wartości współczynnika korelacji (r), określające związek między aktywnością FK w granulocytach, limfocytach oraz ogólną aktywnością w leukocytach ze zmiennością pozostałych wskaźników hematologicznych i immunologicznych. Ogólnie stwierdzić można, że zależności te w znacznie większym stopniu dotyczą wyników badań aktywności w granulocytach niż w limfocytach. Związek aktywności FK w granulocytach z wynikami badań leukogramu jest ustabilizowany; we wszystkich analizowanych stadiach wzrostu buhajków stwierdzono statystycznie istotną korelację dodatnią z liczbą neutrofilów oraz ujemną korelację z liczbą limfocytów. Dużą zgodność zaobserwowano również dla liczby eozynofiliów (dodatnia korelacja w II, III i IV terminie). U zwierząt badanych w wieku 2—3 miesięcy występuje ponadto dodatnia korelacja aktywności z liczbą bazofiliów, a u zwierząt badanych w wieku 8—9 miesięcy występuje ujemna korelacja z liczbą monocytów. Aktywność FK w limfocytach wykazuje jedynie sporadycznie rejestrowane zależności z ogólną liczbą leukocytów (I termin) i monocytów (III termin). Wyniki badań dotyczące ogólnej aktywności FK w leukocytach są odzwierciedleniem zgodnych lub przeciwstawnych związków korelacyjnych zarejestrowanych dla limfocytów i granulocytów oraz tendencji zmian leukogramu w różnych stadiach rozwojowych buhajków.

Uzyskane wyniki wskazują, że ogólna aktywność FK w leukocytach jest w decydującym stopniu uwarunkowana aktywnością określoną w granulocytach ($r = +0,79$ do $+0,88$) mimo, że aktywność w granulocytach i limfocytach wykazuje statystycznie istotną, ujemną korelację.

Interesujące jest stwierdzenie zależności między aktywnością FK w granulocytach i wynikami badań redukcji NBT. U zwierząt badanych w wieku do 6 miesięcy występują statystycznie istotne, ujemne wartości współczynnika korelacji. Prawidłowości te wskazują na współdziałanie NADH zależnej oksydazy, której aktywność decyduje o redukcji NBT oraz kwaśnej fosfatazy leukocytów w procesach pełniących istotną rolę w przebiegu fagocytozy i enzymatycznej degradacji drobnoustrojów chorobotwórczych. Grush i Maurer (4), Bachner i Nathan (3) oraz Park i wsp. (12)

Tab. 2. Współczynniki korelacji (r) między aktywnością kwaśnej fosfatazy i poziomem wskaźników hematologicznych i immunologicznych

Wskaźniki	Aktywność kwaśnej fosfatazy w:											
	granulocytach				limfocytach				leukocytach			
	Wiek badanych zwierząt - miesiące (terminy badań)											
	2-3	5-6	8-9	11-12	2-3	5-6	8-9	11-12	2-3	5-6	8-9	11-12
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Leukocyty $10^9/l$	0,43 ^{xx}				-0,30 ^x				0,44 ^{xx}			
Limfocyty $10^9/l$	-0,35 ^x	-0,47 ^{xx}	-0,51 ^{xx}	-0,43 ^{xx}							-0,26	-0,44 ^{xx}
Neutrofile $10^9/l$	-0,39 ^{xx}	0,50 ^{xx}	0,57 ^{xx}	0,59 ^{xx}					0,30 ^x	0,53 ^{xx}	0,55 ^{xx}	-0,47 ^{xx}
Eozynofile $10^9/l$	0,38 ^{xx}	0,58 ^{xx}	0,39 ^{xx}	0,38 ^{xx}					0,30 ^x	0,62 ^{xx}		
Bazofile $10^9/l$	0,32 ^x	0,30 ^x	0,22	0,50 ^{xx}					0,24	0,58 ^{xx}	0,42 ^{xx}	
Monocyty $10^9/l$		0,46 ^{xx}	0,26	0,54 ^{xx}					0,24	0,60 ^{xx}	0,47 ^{xx}	
Redukcja NBT			-0,43 ^{xx}				0,48 ^{xx}					
- μg formazanu / 10^4 neutrof. / min.			-0,29 ^x				0,29 ^x					
Indeks fagocytarny									-0,27	-0,43 ^{xx}		
Aktywność FK w gran.									-0,37 ^{xx}	-0,53 ^{xx}		
									0,86 ^{xx}	0,26	0,29 ^x	0,73 ^{xx}
									0,88 ^{xx}	0,88 ^{xx}	0,74 ^{xx}	

Objaśnienie: * istotność przy $p \leq 0,05$, ** istotność przy $p \leq 0,01$.

wykazali u ludzi, że system enzymatyczny powodujący redukcję NBT związany jest z funkcją bakteriobójczą neutrofilów. Ujemne lub bardzo niskie wartości tego testu występują w przypadkach wrodzonej anomalii granulocytów (chronic granulomatous disease) i towarzyszą chronicznym infekcjom. Spadek redukcji NBT zarejestrowano również po domięśniowym podaniu glikokortykoidów, hydrokortyzonu i insuliny, natomiast wzrost wartości tego wskaźnika występuje po zastosowaniu szczepionki Delbeta (17). Badania redukcji NBT u zwierząt miały dotychczas zakres bardzo ograniczony. U bydła prowadzono na ogół prace o charakterze metodycznym i dokumentacyjnym. Wyniki uzyskane przez Nikolańczuk (10) oraz Walawskiego i wsp. (18) wskazują jednak na możliwość zastosowania tego testu jako wskaźnika w prognozowaniu potencjału odpornościowego i zdolności adaptacyjnych bydła. Walawski i wsp. (19) stwierdzili ponadto związek między redukcją NBT i występowaniem stanów zapalnych wymienia oraz zawartością tłuszczu i białka w mleku.

Ważnym elementem prowadzonych badań jest występowanie genetycznie warunkowanego polimorfizmu FK u bydła. Wcześniejsze badania własne wskazują na występowanie zależności między polimorfizmem i aktywnością fosfatazy w leukocytach krwi oraz wynikami badań leukogramu i redukcji NBT (8, 9). Wyniki te wskazują na możliwość wykorzystania układu polimorficznego kwaśnej fosfatazy jako markera genetycznego w doskonaleniu odporności naturalnej u bydła.

Wnioski

1. Kwaśna fosfataza wykazuje wyraźną tendencję wzros-

tu aktywności w leukocytach krwi młodych buhajów badanych w wieku powyżej 6 miesięcy.

2. Ogólna aktywność kwaśnej fosfatazy w leukocytach jest w decydującym stopniu uwarunkowana aktywnością oznaczaną w granulocytach mimo, że aktywność w granulocytach i limfocytach wykazuje statystycznie istotną korelację ujemną.

3. Aktywność kwaśnej fosfatazy w granulocytach jest dodatnio skorelowana z liczbą neutrofilów i eozynofiliów oraz ujemnie skorelowana z liczbą limfocytów i wynikami badań redukcji NBT.

Piśmiennictwo

1. Andrews A. T., Alichanidis E.: J. Dairy Res. 42, 391, 1975.
2. Andrews A. T.: J. Dairy Res. 43, 127, 1976.
3. Baehner R. L., Nathan D. G.: New Engl. J. Med. 278, 971, 1968.
4. Grush O. C., Maurer A. M.: Lancet 2, 383, 1969.
5. Kaczmarczyk E.: Medycyna wet. 42, 440, 1986.
6. Kaczmarczyk E., Kaliszczak A., Markowicz L.: Genome 30 (Suppl.) 1, 313, 1988.
7. Kaczmarczyk E., Walawski K.: Acta Acad. Agric. Techn. Olst. 29, 29, 1986.
8. Kaczmarczyk E., Amielńczyk W., Walawski K., Sowiński G.: Pol. Arch. wet. 1988, (w druku).
9. Kaczmarczyk E., Kalamarz A., Walawski K.: Kieleckie Stud. Biol. 1988, (w druku).
10. Kaplow L. S.: Blood 10, 1023, 1955.
11. Nikolańczuk M.: Arch. Immunol. Ther. Exper. 26, 471, 1978.
12. Park B. H., Holmes B. M., Rooley G. E.: Lancet 1, 157, 1969.
13. Raman U., Poland P. L.: Pediatr. Res. 9, 334, 1975.
14. Richter W., Werner E., Bahr H.: Grundwerte der Tiergesundheit und Tierhaltung, Veb Gustav Fischer Verlag Jena, 1979.
15. Stankiewicz W.: Hematologia weterynaryjna. PWRiL Warszawa 1973.
16. Słopek S.: Immunologia praktyczna. PZWŁ Warszawa, 1970.
17. Szlenk Z., Głowacki J., Kalinowska B.: Pol. Tyg. Lek. 32, 1077, 1977.
18. Walawski K., Sowiński G., Czarnik U., Mocek M.: Kieleckie Stud. Biol. 1988, (w druku).
19. Walawski K., Sowiński G., Kruk Z., Zabołewicz T., Boodan S.: Acta Acad. Agricult. Techn. Olst. LIII Zjazd PTZ, 2, 95, 1988.

Adres autora: dr Ewa Kaczmarczyk, ul. Limanowskiego 50/57, 10-343 Olsztyn

CARLI S., MONTESISSA C., SONZOGNI O., MADONNA M., SAID-FAQUI A.: Porównawcza farmakokinetyka siarczanu amikacyny u cieląt i owiec. (Comparative pharmacokinetics of amikacin sulphate in calves and sheep). Res. vet. Sci. 48, 231—234, 1990 (2)

Farmakokinetykę siarczanu amikacyny przebadano u cieląt i u owiec. Antybiotyk stosowano dożylnie lub domięśniowo w dawce 7,5 mg/kg masy ciała. Po podaniu dożylnym stwierdzono wyraźne różnice w parametrach farmakokinetycznych między owcami i cielętami. U cieląt podstawowe stężenie antybiotyku wynosiło 87,05 µg/ml, objętość dystrybucji 350 ml/kg, wielkość pola pod krzywą 5512 min. µg/ml i klirens 1,5/min. kg. U owiec wartości te wynosiły odpowiednio 146,6 µg/ml, 200 ml/kg, 11,018 mjn µg/ml i 0,7 ml/min. kg. Po iniekcji domięśniowej antybiotyku u cieląt jego maksymalne stężenie wynosiło 23,5 µg/ml, maksymalny czas 45 min., pole pod krzywą 5458 min. µg/ml. U owiec te wartości kształtowały się odpowiednio 34,35 µg/ml, 75 min. i 9191 min. µg/ml. Nie stwierdzono natomiast różnic w okresie półtrwania antybiotyku. Wodne roztwory siarczanu amikacyny cechują się dobrą biologiczną dostępnością zarówno u cieląt, jak i u kóz.

G.

VAN GOGH H., VAN DEURZEN E. J. M., VAN DUIN C., VAN MILERT A. S. J. A. M.: Wpływ ciąży na farmakokinetykę czterech sulfonamidów u kóz. (Influence of gestation on the pharmacokinetics of four sulphonamides in goats). Res. vet. Sci. 48, 152—147, 1990 (2)

W badaniach przeprowadzonych na kozach nieciążarnych, ciężarnych oraz po porodzie określono farmakokinetykę sulfadimidyny, sulfisomidyny, sulfadimetoksyny i sulfadoksyny zastosowanych w dawce 50 mg/kg dożylnie. W przypadku sulfadimidyny i sulfadimetoksyny średni czas utrzymywania się poziomu sulfonamidów we krwi ciężarnych kóz obniżał się, średnie tempo klirensu wzrastało. Natomiast średni czas utrzymywania się sulfadoksyny w organizmie ciężarnych kóz przedłużał się, podczas gdy średnia szybkość klirensu nie ulegała zmianie ani przed

ciążą, ani po porodzie. Wartość Cd wzrastała silnie w czasie ciąży i po porodzie w przypadku sulfisomidyny i sulfadimetoksyny.

G.

CULLEN L. K., REYNOLDSON J. A.: Wpływ amitrazy na przewodnictwo nerwowe i przewodnictwo nerwowo-mięśniowe u psów w narkozie. (Effects of amitraz on nerve conduction and neuromuscular transmission in anaesthetised dogs). Res. vet. Sci. 48, 162—164, 1990 (2)

Ataksja pojawia się niekiedy po zastosowaniu kąpieli w roztworze amitrazy u psów leczonych na demodekozę. W badaniach zastosowano wzrastające dawki amitrazy (0,5; 2,0; 5,0 i 10 mg/kg) dożylnie po 9 min. po narkozie wykonanej przy użyciu tiopentanu-metoksyfluranu-tłenu. Amitraz powodował wyraźny postępujący spadek szybkości przewodnictwa neuronalnego. Minimalna szybkość przewodnictwa wynosząca $50,7 \pm 1,5$ m/sek. była jednak w granicach normy. Stąd też ataksja pojawiająca się u psów w kąpielach w roztworze 0,025% amitrazy nie ma charakteru obwodowego. Amitraz nie wpływał na czas skurczu mięśni, co wskazuje na brak jego oddziaływania na przepuszczalność jonów sodu i potasu.

G.

KIRKWOOD J. R., WIDDOWSON M. M.: Gatunkowe różnice w okresie półtrwania w plazmie krwi oksytetracykliny w zależności od masy ciała. (Interspecies variation in the plasma half-life of oxytetracycline in relation to bodyweight). Res. vet. Sci. 48, 180—183, 1990 (2)

W oparciu o dane piśmiennictwa porównano okresy półtrwania w plazmie krwi ($t^{1/2}$) oksytetracykliny u różnych gatunków zwierząt z uwzględnieniem ich masy ciała. Linio-wa regresja logarytmu $t^{1/2}$ eliminacji oksytetracykliny po iniekcji dożylniej do log masy ciała wykazywała znamienne korelację. Okres półtrwania oksytetracykliny wynosił u królika 79 min., u konia 942 min., u świni wahał się od 225 do 846 min., zaś u słonia wynosił 878 min.

G.