

KAZIMIERZ PASTERNAK, BOLESŁAW FLORIAŃCZYK

Aktywność tkankowa dehydrogenazy izocytrynianowej (ICDH) w hipertyreozie u królików

Katedra i Zakład Chemii Fizjologicznej AM, ul. Lubartowska 85, 20-123 Lublin

Summary

Activity of isocitric dehydrogenase (ICDH) in tissues of rabbits in hyperthyreosis

The activity of isocitric dehydrogenase (ICDH) was tested in blood serum, liver, brain, kidneys, lungs, heart and femoral muscles of thyroxinized and control rabbits. This activity was considerably higher in tissues of rabbits in hyperthyreosis. In blood serum, however, the activity of ICDH in hyperthyreosis and control animals was similar or only insignificantly higher in hyperthyreosis.

Dehydrogenaza izocytrynianowa (ICDH, 1.1.1.41) jest jednym z enzymów cyklu Krebsa, biorącym udział w przeprowadzaniu izocytrynianu w α -ketoglutaran. Badania nad aktywnością tego enzymu związanego z intensywnością metabolizmu komórkowego były prowadzone przez wielu autorów (3, 6, 8, 9, 12, 14, 16). Znane są też efekty stymulującego działania tyroksyny na przemianę energii organizmu zwierząt i ludzi. Jak wiadomo, hormon ten, działający poprzez genom jądrowy (4, 7, 11), nasila przemianę materii i energii. Interesujące wydawało się więc podjęcie badań nad określeniem aktywności ICDH w poszczególnych tkankach królika w hipertyreozie i porównanie jej z aktywnością w stanach fizjologicznej równowagi sekrecyjnej tarczycy.

Materiał i metody

Badania przeprowadzano na 18 królikach 12-tygodniowych rasy mieszanej, u których wywoływano hipertyreozę poprzez podawanie domięśniowo tyroksyny w dawce 200 μ g na kilogram masy ciała. Tyroksynę produkcji firmy Sigma podawano przez cztery kolejne dni (1), a następnie po dekapitacji pobierano tkanki do określenia aktywności ICDH. Badania aktywności przeprowadzono w surowicy, wątrobie, mózgu, nerce, płucach, sercu i mięśni u zwierząt poddanych działaniu tyroksyny i kontrolnych.

Pobrane tkanki poddawano homogenizacji w homogenizatorze mechanicznym stosując bufor Tris-HCl pH 7,5. Uzyskany homogenat wirowano 5000 $\times$ g przez 15 min. w celu pozbycia się resztek tkankowych. Supernatant poddawano ponownemu wirowaniu 15 000 $\times$ g przez 30 min. celem eliminacji organelli komórkowych. W tak uzyskanym cytozolu oznaczano aktywność dehydrogenazy izocytrynianowej metodą Bella i Barona (metoda kolorymetryczna polegająca na oznaczaniu ilości powstałego α -ketoglutaranu w reakcji z dwunitrofenylohydrazyną) (2).

W surowicy krwi aktywność ICDH oznaczano bezpośrednio stosując tę samą metodę.

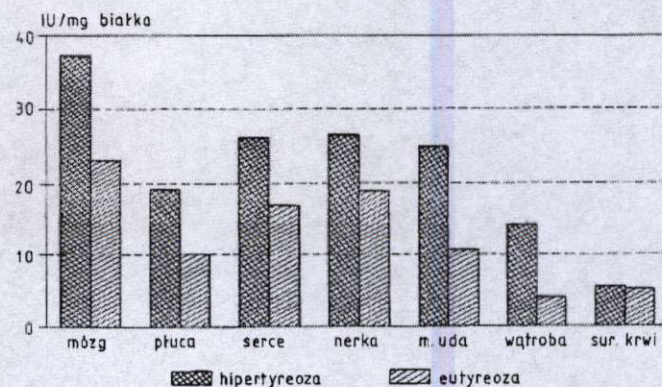
Poziom białka we wszystkich badanych preparatach oznaczano metodą Lowry (10).

Wyniki przedstawiono w jednostkach aktywności ICDH na miligram białka (IU/mg – mikromol α -ketoglutaranu na miligram białka).

Wyniki i omówienie

Aktywność ICDH była wyższa we wszystkich badanych tkankach królików będących w hipertyreozie (ryc. 1). Wyniki

opracowane testem t-Studenta są statystycznie istotne przy poziomie istotności $\alpha = 0,0002 - 0,0003$. W surowicy krwi natomiast aktywność tego enzymu była podobna w obu grupach zwierząt i tylko nieznacznie podwyższała się w hipertyreozie, co jest statystycznie nieistotne. ICDH jest głównie enzymem mitochondrialnym, a w mniejszym stopniu cytozolowym, stąd być może jego mała aktywność w surowicy. Aktywność ICDH w hipertyreozie była zróżnicowana dla poszczególnych tkanek. Najlepiej to zróżnicowanie oddaje stosunek aktywności ICDH w hipertyreozie do aktywności ICDH w eutyreoze, co przedstawia tab. 1. Najwyższy wzrost aktywności ICDH, bo aż 3,4-krotny występuje w wątrobie oraz 2,3-krotny w mięśni uda. Związane to jest prawdopodobnie z możliwością odpowiadzi tych tkanek na działanie tyroksyny. W pozostałych badanych tkankach stosunek aktywności ICDH w hipertyreozie i kontrolnych jest podobny i waha się od 1,4 do 1,9. W surowicy stosunek ten jest najniższy i wynosi 1,07. Związane to może być z podobnym nasileniem uwalniania tego enzymu z komórek zarówno u zwierząt w hipertyreozie, jak i kontrolnych. Działanie tyroksyny na receptor jądrowy powoduje wzrost syntezy mRNA (4, 7, 11, 15), co będzie w rezultacie



Ryc. 1. Aktywność ICDH w hipertyreozie u królików

Tab. 1. Stosunek aktywności ICDH w hipertyreozie do aktywności ICDH w eutyreoze

Tkanka	Aktywność ICDH IU/mg		Stosunek hipertyreozia eutyreoza
	hipertyreozia	eutyreoza	
Mózg	37,4±5,2	23,2±4,4	1,61
Płuca	19,3±3,1	10,1±2,2	1,91
Serce	26,2±4,3	17,1±2,8	1,53
Nerka	26,6±5,0	19,0±3,1	1,40
Mięsień uda	24,9±4,5	10,6±2,0	2,35
Wątroba	14,4±2,5	4,2±0,7	3,43
Surowica	5,6±0,8	5,2±1,0	1,07

powodowało wzmożenie syntezy odpowiednich białek enzymatycznych, w tym również ICDH. Zróżnicowanie aktywności ICDH w zależności od rodzaju tkanki wiąże się z działaniem tyroksyny na poszczególne tkanki, jak również z możliwością odpowiedzi tkanek na działanie hormonu.

Wnioski

1. Aktywność ICDH we wszystkich badanych tkankach królika jest znacznie wyższa w hipertyreozie w porównaniu z tkankami kontrolnymi.

2. Aktywność ICDH w surowicy zwierząt będących w hipertyreozie jest tylko nieznacznie wyższa niż u zwierząt kontrolnych.

Piśmiennictwo

1. Arai M., Orsu K., MacLennan D. H., Alpert N. R., Periasamy M.: *Circulation Res.* 69, 266, 1991.
2. Bell J. L., Baron D. N.: *Clin. Chim. Acta* 5, 740, 1960.
3. Board M., Humm S., Nevsholme E. A.: *Biochem. J.* 265, 503, 1990.

4. Datta S., Magge S. N., Madison L. D., Jameson L.: *Molecular. Endocrinology* 6, 815, 1992.
5. Eisenberg B. R., Goldspink P. H., Wenderoth M. P.: *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 23, 278, 1991.
6. Ellis G., Goldberg D. M.: *Clin. Biochem.* 2, 175, 1971.
7. Glass Ch. K., Holloway J. M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 157, 1990.
8. Lange G., King R. J.: *J. Steroid. Biochem.*, 33, 853, 1989.
9. Lopez G. A., Dunn H. P.: *J. Maine Med. Ass.* 59, 249, 1968.
10. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Lewis Farr A., Randall R. J.: *J. Biol. Chem.* 193, 265, 1951.
11. Nagaya T., Madison L. D., Jameson L.: *J. Biol. Chem.* 267, 13014, 1992.
12. Raju K. S., King R. J., Taylor R. W.: *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 12, 331, 1991.
13. Rapijko P. J., Watleins D. C., Ros M., Malbon C. C.: *J. Biol. Chem.* 264, 16183, 1989.
14. Seelig G. F., Colman R. F.: *Arch. Biochem. Biophys.* 188, 394, 1978.
15. Simonides W. S.: *FEBS Lett.* 274, 73, 1990.
16. Wang Y. M., Van Eye J.: *Int. J. Biochem.* 8, 795, 1977.
17. Weinstein S. P., Waits J., Haber R. S.: *Endocrinology*, 129, 455, 1991.

Adres autora: dr med. Kazimierz Pasternak, ul. Ponikwoda 34, 20-135 Lublin

MIROSŁAW KLECZKOWSKI*, WŁODZIMIERZ KLUCIŃSKI, JACEK SIKORA, KOUROU DEMBELE

Wpływ stosowania siarczanu kobaltu u buhajów hodowlanych w warunkach niedoboru tego pierwiastka w paszy

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

*Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Nowogrodzka 160, 18-400 Łomża

Summary

Effect of cobalt application in bulls bred in conditions of cobalt deficiency in feed

The study aimed at assessing the effect of the optimum dose of cobalt sulfide that can be applied in feed for bulls bred in the parts of Poland reported to be deficient in Co, Cu, Mo and Zn as a measure to eliminate symptoms of cobalt deficiency. The study group consisted of 36 bulls of the black and white breed at the age of 18 months. Among symptoms previously observed in this group of animals were the lack of appetite, licking, emaciation, paleness of mucosa, dryness of the skin, dullness of the hair and coughing. The bulls were divided into three groups of 12 animals each. Control animals were placed in group I where no cobalt additives were used in the feed. Animals in group II received 30 mg Co (per animal, administered per os on a daily basis for 60 days). Group III animals received the same trace element in a form of intramuscular injections at 30 mg Co per animal every three days. At commencement, and later on the 30th and 60th day of the experiment, 4 animals from each group were slaughtered to determine the concentration of Co in the liver, atomic absorption spectrophotometry was used. It was found that although Co was detected in the liver at concentrations above those recognized as insufficient, clinical symptoms had occurred accompanied by low weight gains characteristic for deficiency in trace elements in the organism. Augmentation of feed with Co produced a therapeutic effect higher than the one noted when Co was administered intramuscularly.

Zaburzenie w łańcuchu przenoszenia pierwiastków z gleby do roślin, a następnie do organizmu zwierząt, prowadzić może do występowania w ich organizmie subklinicznych lub klinicznych niedoborów makro- i mikroelementów. Na szczególną uwagę zasługują zaburzenia oraz postępowanie profilaktyczne i terapeutyczne, wynikające z niedoboru w paszy kobaltu. Szczególnie wyraźny niedobór tego mikroelementu uwidacznia się u przeżuwaczy, u których podawanie ubogiej w kobalt paszy prowadzi do występowania szeregu nieswoistych powszechnie znanych objawów. Szybko ustępują one po uzupełnieniu paszy węglanem, chlorkiem lub siarczanem kobaltu (1, 11).

Zespół objawów, jaki może pojawić się u zwierząt przy pierwotnym niedoborze tego pierwiastka spowodował, że zaburzenia te opisywane są w piśmiennictwie pod różnymi nazwami: bush-sickness (Nowa Zelandia), coast disease i wasting disease (Australia), salt sick, neck ail i Grand Traverse disease, enzootic marasmus lub muscular wasting (USA), Nakurulitis (Kenia), pining disease (Wielka Brytania), toque, mal de colete, pest de secar i sablose (Brazylia), Lecksucht (Niemcy), mos-sjuka (Estonia) (10). Duża wrażliwość przeżuwaczy na niedobór kobaltu wynika z faktu, iż absorpcja tego mikroelementu z przewodu pokarmowego jest niższa niż u innych gatunków zwierząt posiadających żołądek jednokomorowy. Zaledwie 3% tego pierwiastka wbudowywane jest przez mikroorganizmy żwacza do witaminy B₁₂ (kobalaminy). Ponad 84% kobaltu podawanego per os wydalane jest w ciągu 5-14 dni z kałem, a ok. 1% z moczem. U krów mlecznych ok. 12% kobaltu może być wydzielane z mlekiem (15). W praktyce weterynaryjnej