

MEDYCYNĄ WETERYNARYJNĄ

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

ZWASOPISMO POSWIECONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZALOZONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, prof. dr Jerzy MAZURCZAK,
prof. dr Abdon STRYSZAK, doc. dr Stanisław WOŁOSZYN,

Sekretarz naukowy: dr Ryszard SŁUŻEWSKI.

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr. Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, prof. dr Roman HOPPE, prof. dr Tadeusz JASTRZĘBSKI, prof. dr Lech JASKOWSKI, płk. doc. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Wincenty PEZACKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Aleksander ZAKRZEWSKI, prof. dr Eugeniusz ŻARNOWSKI.

HIGIENA I TECHNOLOGIA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ

HENRYK BALBIERZ

Lekarsko-weterynaryjne aspekty immunogenetyki*)

Z Instytutu Patologii i Terapii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Rozwój genetyki klasycznej i molekularnej, dokonujący się równolegle z poważnymi osiągnięciami w innych dyscyplinach, w tym także w immunologii, zapoczątkował wiele nowych kierunków badawczych.

Znajomość mechanizmów dziedziczenia grup krwi, coraz doskonalsze poznawanie antygenowej struktury cech grupowych, stworzyły zręby dla nowej dyscypliny — immunogenetyki.

W latach pięćdziesiątych stwierdzono, że właściwościami grupowymi są obdarzone nie tylko elementy upostaciowane krwi; że podobne cechy wykazują różne białka, stanowiące stałe składniki surowicy krwi, że także inne wydzieliny i płyny ustrojowe takie właściwości mogą wykazywać (np. ślina, plazma nasienia i inne).

Zdecydowana większość układów grupowych może być oznaczana od najwcześniejszych okresów życia osobnika, a raz ustalona — nie ulega zmianom ani w wyniku przebytych chorób, ani pod wpływem niesprzyjających warunków środowiska;

trwa więc niezmiennie do końca życia osobnika, i to jest olbrzymią ich zaletą.

Względna łatwość rutynowych oznaczeń takich układów i nieskomplikowana ich interpretacja sprawiły, że są one coraz częściej wykorzystywane i mogą przynosić poważne korzyści w wielu dziedzinach badań poznawczych i aplikacyjnych.

Z wielu ukierunkowań odnotowanych w immunogenetyce — dwa wydają się bardzo konkretne i obiecujące; są nimi — produktywność oraz zdrowotność.

Z lekarsko-weterynaryjnego punktu widzenia wymienione dwa kierunki winny stanowić nierozdzielalną całość. Nie można bowiem spodziewać się wysokiej produktywności od zwierząt niedomagających. Pełne głębokich racji jest hasło twierdzące, że „nie ma produkcji bez reprodukcji”; ta ostatnia jest na pewno czułym wskaźnikiem stanu zdrowia zwierzęcia.

Dla sprawniejszego rozwinięcia tematu można jednakże zagadnienia te omawiać oddzielnie, eksponując — ze zrozumiałych względów — na plan pierwszy udział zdobyczy immunogenetyki w ocenie zdrowotności przede wszyst-

*) Referat wygłoszony na sympozjum naukowym „Problemy genetycznej kontroli zdrowotności zwierząt” w Olsztynie, w maju 1975 r.

kim zwierząt, chociaż w niektórych momentach będzie zachodziła konieczność odwoływania się także do człowieka.

Wspomniano już, że zdecydowana większość układów grupowych może być określana od pierwszych dni życia osobnika; wśród niewielkiej liczby układów, których polimorfizmu nie można określać bezpośrednio po urodzeniu, znajduje się hemoglobina.

Polimorfizm hemoglobiny był jednym z pierwszych czynników, poza klasycznymi grupami krwi, który wykorzystano do charakteryzowania oblicza genetycznego gatunków i ras. Pamiętać jednak należy, że tylko niektóre rasy bydła chowanego u nas w kraju, takie zróżnicowanie polimorficzne hemoglobiny wykazują.

Niemожność pewnego oznaczenia typu hemoglobiny, bezpośrednio po urodzeniu się cielęcia, wpływa ze zmienności czerwonego barwnika krwi, jaka dokonuje się w życiu osobnika, a więc w ontogenezie (23).

Zmienność typów hemoglobiny obserwowana w rozwoju ontogenetycznym, począwszy od hemoglobiny embrionalnej w postaci Hb Gower 1, zbudowanej z czterech łańcuchów epsilon oraz Hb Gower 2 o układzie epsilon₂ i alfa₂, poprzez hemoglobinę płodową o budowie alfa₂gamma₂ do hemoglobiny osobnika dorosłego o składzie alfa₂beta₂, jest klasycznym przykładem rozwiniętej zdolności adaptacyjnej ustrojów (17).

Mimo, że hemoglobina należy do najlepiej poznanych białek i często jest uznawana jako białko modelowe (16), nie wyjaśniono istoty mechanizmu jej zmienności w życiu osobniczym. Sekwencja w czasie ontogenezy czterech biochemicznie odrębnych form tego samego funkcjonalnie białka świadczy, że indukcja syntezy łańcucha niealfa określonego typu (epsilon, gamma, beta) jest związana z represją syntezy łańcucha niealfa wcześniejszego typu hemoglobiny.

Z doniesień (22) wynikają wskazania, aby do testowania typów hemoglobin u bydła nie pobierać krwi od osobników, które nie ukończyły 3 miesięcy życia, a u owiec — przed upływem 1 miesiąca.

Uwarunkowania te płyną z faktu, że u nowo narodzonych cieląt (a także jagniąt) przez pewien jeszcze okres po narodzeniu, w krwi obwodowej utrzymują się krwinki zawierające hemoglobinę typu płodowego. Szybkość migracji w polu elektrycznym hemoglobiny typu płodowego, podczas rozdzielu w żelach (agary, krochmalowy) bądź na bibule jest bardzo podobna do migracji szybko wędrującego typu hemoglobiny osobnika dorosłego; mogłoby to prowadzić do pomyłek w określaniu typu hemoglobiny i dalszych tego następstw.

Innym układem, którego również nie można wykorzystać bezpośrednio po urodzeniu — wprawdzie z zupełnie innych przyczyn, jest haptoglobina, białko odpowiedzialne za utrzymanie w ryzach hemoglobiny uwolnionej z krwinek.

Powszechnie przyjmowana niezmiennosc układów grup białek w życiu osobnika ma jednak swoje wyjątki, a ponieważ dotyczą one także zwierząt, pokrótce je przedstawię.

U owiec, podobnie jak u bydła, występuje polimorfizm hemoglobiny u osobników dorosłych; wykrywamy u nich hemoglobinę szybko migrującą, hemoglobinę wolno migrującą oraz w układzie heterozygotycznym — obydwa typy występujące równocześnie.

Zauważono jednak, że w niesprzyjających warunkach bytowania np. wysoko ponad poziomem morza, bądź u osobników dotkniętych inwazją niektórych pasożytów przewodu pokarmowego, a także u owiec doświadczalnie anemizowanych (8, 9, 10), co potwierdziliśmy własnymi badaniami (5) może pojawić się typ hemoglobiny, którego u owiec tych uprzednio nie rejestrowano. Szczegółowe badania tego zjawiska pozwoliły zaproponować tłumaczenie możliwości zmiany typu hemoglobiny u owiec dorosłych, obdarzonych hemoglobiną wolno migrującą i to zarówno w układzie homo- jak i heterologicznym. Ciekawy i znamienny jest fakt, że ten, jak gdyby interwencyjnie pojawiający się w okresie kryzysu tlenowego, typ hemoglobiny znika w miarę, gdy warunki utlenowania organizmu wracają do normy.

Ten interesujący fenomen, inicjowany u owiec koniecznością zabezpieczenia ustrojowi znajdującemu się w depresji krwiotworzenia odpowiedniej ilości tlenu, może być tłumaczony uczynnieniem milczącego dotychczas genu, do uruchomienia nowego toru hemoglobinogenezy.

Przykład ten może stanowić także pomost między fizjologicznym polimorfizmem hemoglobin, występującym u niektórych zwierząt, a całym zespołem hemoglobinopatii znanych u człowieka (16). Należy jednak podkreślić, że u zwierząt dotychczas nie opisano patologicznych form hemoglobiny i klinicznych następstw związanych z polimorfizmem czerwonego barwnika krwi.

Oporność na inwazję kleszczy i przenoszone przez nie schorzenia jest przedmiotem wielu opracowań, głównie z krajów afrykańskich (12). Aczkolwiek dotychczasowe obserwacje nie wykazały prostych, bezpośrednich zależności tych zjawisk, z grupami krwi i typem hemoglobiny, to jednak ujawniły pewne zróżnicowanie siły inwazji kleszczy i natężenia trypanosomiaz wśród autochtonicznych ras bydła (13).

Stosunkowo odporne okazało się bydło Zebu; wyróżnia się ono grubsza skórą, co może być korzystną cechą obronną przed inwazją pasożytów zewnętrznych. Bydło to cechuje się trzema typami hemoglobiny: HbA, HbB, HbC, z których dwa ostatnie uważane są za towarzyszące (11) większej oporności tego bydła na trypanosomiazę (11).

Przypuszczenie takie, co prawda tylko w stosunku do HbB, było już wysuwane w 1958 r. tuż po stwierdzeniu fizjologicznego polimorfiz-

mu hemoglobiny u bydła. Zjawisko to jest więc analogiczne do obserwacji poczynionej dla sporowca malarii i hemoglobiny S człowieka; jednak w przypadku bydła mamy do czynienia nie z patologicznym typem hemoglobiny, a białkiem prawidłowym; zjawisko winno być zatem zaliczane raczej do zjawisk oporności naturalnej.

Dotychczas przy rozpatrywaniu przyczyn różnych chorób najczęściej uwagę zwracano na czynniki pozaustrojowe, a szczególnie na drobnoustroje chorobotwórcze (bakterie i wirusy); mniejszą natomiast wagę przypisywano czynnikom wewnątrzustrojowym oraz przemianom, jakie zachodzą w zaatakowanym ustroju i różnym mechanizmom obronnym, jakie w jego dyspozycji pozostają.

Zdobyte biologii i patologii molekularnej pozwalają obecnie w tłumaczeniu patogenyzy chorób sięgać znacznie głębiej, wykorzystywać zjawiska daleko wybiegające poza klasyczne szablony.

Można to w sposób przekonujący przedstawić na przykładzie patologicznej struktury hemoglobiny, występującej u ludzi. Zimnicę (malarię) wywołują pasożyty wewnątrzkomórkowe, które dla swego prawidłowego rozwoju muszą mieć zapewniony komfort i to utrzymujący się przez cały okres ich rozwoju, to jest mniej więcej tak długo, jak długo żyją prawidłowe erythrocyty, zawierające hemoglobinę typu A. Zauważono, że osobnicy, których krwinki zawierają patologiczną hemoglobinę typu S, i którzy cierpią na niedokrwistość sierpowatą, nie zapadają na zimnicę lub chorując — przechodzą ją w sposób bardzo łagodny.

Niedokrwistość sierpowata cechuje się obecnością erythrocytów odmiennego kształtu, osłabieniem czynności transportowej tlenu i krótszym okresem życia. Hemoglobina S zawarta w krwinkach sierpowatych zbudowana jest z 4 łańcuchów parami równych, podobnie jak hemoglobina prawidłowa, a różni się tylko jednym aminokwasem łańcucha beta, w którym, w miejsce kwasu glutaminowego, wmontowana jest walina. Tę przypadłość podaje się często jako wzór mutacji punktowej.

Zjawisko występowania hemoglobiny typu S i niedokrwistości sierpowatej oraz zimnicy wykazuje charakter endemiczny. Zbieżność tę wyjaśnił Allison, wysuwając hipotezę, że w tym przypadku mamy do czynienia ze skutkami selekcji ujemnej. Polega ona na tym, że osobnicy obdarzeni patologiczną hemoglobiną typu S, nie chorują na zimnicę. Dalsze badania wykazały, że przyczyną niewrażliwości na zimnicę jest zbyt krótki okres życia krwinki sierpowatej, skutkiem czego proces rozwojowy pasożyta, jaki dokonuje się w krwince ulega zahamowaniu, a cykl rozmnażania pasożyta — przerwaniu.

Największe szanse przeżycia i najlepsze warunki bytowania posiadają osobnicy o heterozygotycznym składzie hemoglobiny, a więc ob-

darzeni hemoglobiną HbA/HbS, których posiadanie prawidłowej hemoglobiny (HbA) chroni przed następstwami niedokrwistości sierpowatej; natomiast obecność HbS, stanowiącej połowę hemoglobiny całkowitej zabezpiecza przed ostrą postacią zimnicy (16).

Na osoby z takim garniturem hemoglobiny (HbA/HbS) czyhają inne przykre niespodzianki, związane z przejściowym niedotlenieniem, np. podczas lotów wysokościowych, wędrówek wysokogórskich. Występują w nich wówczas gwałtowne kryzy hemolityczne z następowymi zakrzepami w układzie naczyniowym różnych narządów, a przede wszystkim w śledzionie.

Te przykłady ukazują z jednej strony zdolności adaptacyjne ustrojów do odmiennych warunków, z drugiej zaś ukazują możliwość świadomego kierowania i zapewnienia stosowanych warunków do możliwości i potrzeb ustroju.

Bogatą podstawą dla modelowych badań zaburzeń enzymatycznych są krwinki czerwone; unikalna funkcja erythrocytów w ustroju, nie możliwa do zastąpienia innymi układami, musi ujawniać wszystkie defekty ich przemian metabolicznych, co dobitnie uzewnętrznia się zaburzeniami klinicznymi (16).

Wśród pokaźnej ilości poznanych enzymów krwinek czerwonych, niektóre wykazują polimorfizm, który — podobnie jak innych białek — może być wykorzystany w identyfikacji immunogenetycznej; może także wyjaśniać różne nasilenie objawów klinicznych związanych z tymi defektami. Do takich enzymów należą m. in. dehydrogenaza glukozy-6-fosforanu, kwaśna fosfataza erythrocytarna, niespecyficzne esterazy i inne.

Polimorficzne różnicowanie lub defekty genetyczne w czasie wytwarzania, bądź braki niektórych enzymów występujących w plazmie krwi dają znać o sobie nie tylko w badaniach testowych, lecz także podczas wykonywania zabiegów leczniczych i profilaktycznych. W tych ostatnich okolicznościach ich ujawnienie prowadzi do kłopotliwych sytuacji z nagłym zejściem zwierzęcia włącznie.

Zabiegi odrobaczania, systematycznie prowadzone np. w stadach owiec, stwarzają właśnie takie wzmiankowane sytuacje. Okazuje się bowiem, że w surowicy krwi jednych owiec można wykazać obecność A-esterazy, u innych ich brak. Lee (19) doniósł, że owce posiadające we krwi esterazy znacznie lepiej znosiły nawet duże dawki preparatu Halaxon — większe niż stosuje się przy odrobaczaniu; gdy te z brakiem esteraz ujawniały efekty neurotoksyczne, oscylujące od ataksji do pełnego obustronnego porażenia. Objawy te uzewnętrzniały się po około 3 tyg. i nie ustępowały w zdecydowanej większości przypadków do śmierci zwierzęcia. Porażone owce zachowywały jednak apetyt i pragnienie, pozostawały czujne i gdy tylko pokarm znalazł się w zasięgu ich głowy — sięgały po niego (3).

W próbach wyjaśnienia mechanizmu patogenetycznego działania Haloxonu i różnic notowanych u owiec przyjęto, że duża oporność owiec obdarzonych A-esterazą wiązać się może ze zdolnością tego enzymu do hydrolizy Haloxonu, i dzięki temu neutralizowaniu jego neurotropowego działania.

Również u niektórych koni poddawanych przed zabiegami chirurgicznymi premedykacji sukcynylcholiną stwierdzono gwałtowny bezdech, prowadzący nawet do zejścia. Nie ustalono wprawdzie, który układ lub może brak którego z układów enzymatycznych jest odpowiedzialny za tę przypadłość. Sięgając w poszukiwaniu tłumaczenia tych zjawisk po analogiczne, opisane u człowieka, można by skłaniać się do poglądu, że to właśnie brak, niedostatek lub obecność nietypowej pseudocholinesterazy jest tego sprawcą.

Zalecana w praktyce, także weterynaryjnej, transfuzja krwi dla wykorzystania naturalnych zasobów przeciwciał zgromadzonych w surowicy krwi zdrowych, dorosłych osobników (4), stosowana bądź w formie hemoterapii bądź seroterapii, najczęściej przy zapobieganiu schorzeniom w okresie neonatalnym, kreślą przed immunogenetyką i immunopatologią nowe problemy, stawiają nowe zadania.

Można spodziewać się, że podobnie jak w medycynie człowieka, rozpowszechnienie transfuzji u zwierząt pociągnie za sobą ujawnianie nowych układów grupowych, nowych antygenów leuko- i trombocytnych, a także wzbogaci wiedzę o polimorfizmie białek i enzymów.

W 1957 r. ukazała się publikacja (20) o wynikach poszukiwania korelacji między allotypami Gm, zdolnością odpowiedzi immunologicznej, a śmiertelnością u ludzi. Osobnicy z układem Gm (a, g), zarówno homo- jak i heterozygoty, częściej wykazywali większą reaktywność odpowiedzi immunologicznej na zastosowany antygen, niż nosiciele układu Gm (-a, -g) lub Gm (b, f).

Analiza śmiertelności w grupach osób z podanymi układami wykazała różne nasilenie zejść w zależności od typu Gm oraz typu odpowiedzi immunologicznej. W konkluzji autorzy ci (20) są skłonni przyjąć istnienie asocjacji między fenotypem Gm (-a, -g), stanem reaktywności immunogennej wobec stosowanego antygeny, a podwyższoną śmiertelnością; rozważają także dwie drogi, które mogłyby tłumaczyć tę zbieżność. Jedna zakłada, że:

— fenotyp Gm (-a, -g) mógłby być związany z niższą zdolnością obronną odpowiedzi humoralnej na różne antygeny bakteryjne, predysponując w ten sposób do śmierci w różnych chorobach infekcyjnych, szczególnie, gdy nakładają się one na współtrwającą chorobę o przewlekłym charakterze; — druga, że: fenotyp Gm (-a, -g) sam, bezpośrednio mógłby być skojarzony z wyższą predyspozycją na jedną lub więcej z ciężkich chorób, których rozwinięcie się zagraża życiu pacjenta.

W badaniach nad zwierzętami podejmowane są także poszukiwania, celem znalezienia tych spośród wielu parametrów biochemicznych, którym można by przypisać odpowiedzialność za oporność np. świń na stres hipertermiczny i na rozwijanie się niekorzystnych zmian postępowych w mięśniach (24).

Ostatnio ukazała się praca sygnalizująca genetyczne uwarunkowanie mieszanych niedoborów u źrebiąt krwi arabskiej. Ta przypadłość, o znamionach defektu genetycznego, jest brzemienna w następstwa. Źrebięta dotknięte takim niedoborem wykazują podwyższoną wrażliwość na infekcje przede wszystkim adenowirusami, lecz także innymi wirusami, bakteriami lub grzybami.

Autorzy (21) skłaniają się do sugestii, że opisywany przez nich mieszany immunoniedobór jest recesywną cechą autosomalną. Defekt ten ujawnia się niedoborem immunoglobulin, limfocytopenią, hipoplazją grasicy i bardzo przypomina klinicznymi objawami oraz zmianami anatomopatologicznymi syndrom immunoniedoboru, stwierdzany u człowieka.

Opisanie mieszanego immunoniedoboru u źrebiąt krwi arabskiej każe oczekiwać pojawienia się także czystych postaci immunoniedoborów, obejmujących układ obronny grasiczo-zależny, a więc przejawiających się brakiem lub niedoskonałością mechanizmów swoistej obronności komórkowej, to znaczy odpowiedzi późnej, pośredniej. Może objąć także tylko układ burso-zależny, a jego defekty objawiałyby się brakiem lub bardzo niskim poziomem immunoglobulin wszystkich, bądź poszczególnych klas; pozbawiałyby to ustrój możliwości natychmiastowej, bezpośredniej reakcji obronnej.

Czas oczekiwania na pojawienie się takich doniesień będzie odmierzany postępowaniem dokonującym się w różnicowaniu limfocytów grasiczo- i burso-zależnych; niespodziewane przyspieszenie może nadejść wraz z opracowaniem metody, która pozwoliłaby różnicować wspomniane populacje limfocytów, na podstawie ich walorów morfologicznych bądź biochemicznych, także w niespecjalistycznych pracowniach diagnostycznych.

Badanie układów grupowych w codziennej praktyce jest obecnie wykorzystywane przede wszystkim podczas wykluczania ojcostwa, a także w ustalaniu trendów konsolidacji poszczególnych układów w populacjach, rasach, bądź typach użytkowych.

Należy oczekiwać, że intensyfikacja hodowli świadomie ukierunkowanej na szczególnie cenne walory, przysporzy nowych zagadnień natury immunologicznej.

Możliwość immunogenetycznej charakterystyki zwierząt selekcionowanych jako materiał rozrodczy do stad podstawowych mogłaby w dużej mierze wytyczyć drogi doboru i kojarzeń. Wydaje się bowiem, że takie postępowanie zawiera przesłanki racjonalnego wykorzy-

stania zdobywcy weterynaryjnej immunopatologii i immunogenetyki dla unikania niespodzianek, które w chowie przemysłowym i hodowli wielkostatnej mogą pociągnąć straty już nie pojedynczych osobników, lecz wielu, a nawet znacznej części pogłowia takich obiektów.

W układach eksperymentalnych immunogenetyka stara się stwarzać warunki umożliwiające ocenę i wnioskowanie o preferencji lub pejoratywnych wartościach pojedynczych form białek albo ich całych układów, wprzęgniętych w jakiś cykl przemian.

Lherminier (18) opisuje ciekawe spostrzeżenia korelacji u 3 ras bydła francuskiego. Z 15 badanych locji, aż 5 wykazało wymierne różnice fizjologiczne. Rodzi się więc pytanie, dlaczego istnieją allele warunkujące biochemiczny polimorfizm, towarzyszące często różnicom fizjologicznym? Należy też dodać — pisze dalej autor — że te biologiczne składniki mają różne właściwości, np. różną siłę enzymatyczną, jak to dla różnych wariantów kwaśnej fosfatazy erytrocytów opisali Hopkinson i wsp. (15) i inni. Tak więc obecność lub brak jakiegoś allelu ujawnia się zmianą produkcyjności. Jeżeli więc selekcja stale faworyzuje jeden allele, dlaczego — pyta Lherminier — zachowane zostają inne, dlaczego układ nie osiąga pełnej homozygotyczności?

Teoria tłumacząca zjawisko polimorfizmu zakłada, że może on istnieć tylko wówczas, gdy allele są poddawane heterogennym siłom selekcji lub jeżeli posiadają one rozmałą wartość selekcyjną; to świadczyłoby, że są one — alternatywnie — korzystne bądź niekorzystne, zgodnie z warunkami w jakich wypadnie im funkcjonować. Polimorfizm znika, jeżeli allele są obojętne lub stałe, niealternatywne w swym działaniu.

Badania partnerów przeznaczonych do reprodukcji, ich dobór pod względem układów genetycznych, zapewniający faworyzowanie pożądanej cechy u potomstwa, to pierwszy krok w nowoczesną hodowlę.

Kolejne zadania stawiane przed immunologią i immunopatologią to zebranie dokładnej informacji o odpornościowych walorach zwierząt i poszukiwanie ewentualnych korelacji z cechami użytkowymi. Pamiętać jednak należy, że procesy immunologiczne, stanowiące najprecyzyjniejszy oręż w systemie obrony i decydujące często o możliwości przetrwania ustroju, mogą niekiedy stać się źródłem poważnych zaburzeń. Wprawdzie dotychczas nie opisano u zwierząt klasycznego konfliktu immunologicznego, który rozwinąłby się w następstwie niezgodności w obrębie poznanych dotychczas układów białek surowicy partnerów rodzicielskich; jednak już sygnalizowano o niekorzystnych następstwach pewnych układów obecnych u kojarzonych osobników — w zjawiskach płodności i w rozmnażaniu. Niektórzy utrzymują, że na przykład heterozygotyczne układy transferyn u kojarzonych partnerów wpływa-

ją niekorzystnie na ilość rodzonego potomstwa (2).

Znane i opisywane są konflikty natury immunologicznej u zwierząt, prowokowane niezgodnością niektórych układów antygenowych krwinek czerwonych (1), bądź innych, nie zawsze jednoznacznie identyfikowanych immunogenów (6, 7). Hardy (14) opisała defekt o podłożu immunologicznym u lochy rasy Pietrain, która po 6 kojrzeniach tym samym knurem rasy Pietrain, urodziła 6 miotów. W pierwszym wyproszczeniu wszystkie prosięta były żywe i zdrowe. W kolejnych trzech wyproszczeniach rodziła po 10—11 prosiąt, z których jednak w okresie postnatalnym ubywało 1—2 prosiąt. Piąta ciąża zakończyła się urodzeniem 16 prosiąt, z których część było martwych lub ginęło w okresie neonatalnym; przeżyły tylko 2 prosięta. Szósta ciąża zakończyła się natomiast poronieniem. Testowanie surowicy tej maciory z krwinkami knura-partnera w teście antyglobulinowym wykazało ich aglutynację. Nie udało się jednak zidentyfikować przeciwciała, chociaż stwierdzono, że reaguje ono z krwinkami innych osobników, także z innych stad.

Autorka stwierdza, że opisane zjawisko świadczy o immunizacji samicy jakimś, dotąd nie poznany czynnik antygenowym knura, a kliniczny przebieg immunizacji jest całkiem podobny do typowego przypadku progresywnej choroby hemolitycznej noworodków.

Procesy immunizacji dokonujące się podczas niektórych szczepień ochronnych można również uważać za przyczynę wytwarzania stanów nadwrażliwości zwierząt.

W zakresie przyszłych zainteresowań znajdują się — dyktowane koniecznością — poszukiwania korelacji między walorami produkcyjnymi zwierząt gospodarskich i coraz szerszym wachlarzem wskaźników ujawniających polimorfizm, warunkowanych zapisem genetycznym. Rozwijane będą poszukiwania walorów immunobiologicznych, które by zapewniały wysokoprodukcyjnym zwierzętom utrzymanie równowagi wobec naporu płynącego z wymagań coraz intensywniejszej hodowli.

Piśmiennictwo

1. Andressen E.: A study of blood groups of the pig. Munksgaard, Copenhagen 1963.
2. Ashton G. C.: Maternal-fetal incompatibility and heterozygote advantage in mouse transferrins. XIth European Conf. of Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism. Dr. W. Junk N. V., Publishers — the Hague. PWN 1970.
3. Baker N. F., Tucker E. M., Stormont G.: Amer. J. vet. Res. 31, 865, 1970.
4. Balbierz H.: Polimorfizm białek w aspekcie weterynaryjnym. I. Symp. — Perspektywy Rozwoju Genetyki Zwierząt w Polsce. PAN, Komitet Nauk Zoot., Inst. Genetyki i Hodowli Zw. Jastrzębiec, 1974.
5. Balbierz H., Geringer H., Nikołajczuk M.: Pol. Arch. wet. 13, 195, 1970.
6. Balbierz H., Klucznik P.: Medycyna Wet. 27, 675, 1971.
7. Balbierz H., Klucznik P., Nikołajczuk M., Wiatroszak I.: Medycyna Wet. 29, 168, 1973.
8. Beale D., Lehman H., Drury A., Tucker E. M.: Nature 209, 1099, 1966.
9. Blunt M. A., Evans J. V.: Nature 200, 1215, 1963.
10. Braend M., Efremov G.: Nature 205, 186, 1965.
11. Carr W. R., Macleod J., Woolf B., Spooner R. L.: Trop. Anim. Hlth. Prod. 6, 203, 1974.
12. Francis J.: Br. vet. J. 122, 301, 1966.

13. Francis J., Ashion G. C.: Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 45, 131, 1967.
14. Hardy J.: Natural blood group antibodies in pigs. XII European Conf. on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism. Akadémiai Kiadó Budapest 1972.
15. Hopkinson D. A., Spencer A., Harris H.: Nature 199, 969, 1963.
16. Horst A.: Problemy genetyki medycznej. PZWL 1971.
17. Huisman T. H. J.: Hemoglobin types in some domestic animals. X Congrès Européen sur les Groupes Sanguins et le Polimorphisme biochimique des Animaux. Paris 1966.
18. Lherminier Ph.: The Maintenance of Polymorphism in Cattle. XII European Conf. on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism. Akadémiai Kiadó Budapest 1972.
19. Lee J. (cyt. za 3).
20. Mackay I. R., Wells J. V., Fudenberg H. H.: Clin. Immunol. Immunopath. 3, 408, 1975.
21. McGuire T. C., Marinell J. P., Banks P. L.: J. Am. vet. med. Ass. 164, 70, 1974.
22. Nikolaiczuk M.: Observation sur les hémoglobines des Bovines. Comptes rendus du 8 Congrès de la Société Européenne d'Hématologie. Wien 1961.
23. Nikolaiczuk M.: Weterynaria, Wrocław 95, 7, 1972.
24. Schmidt G. R., Kastenschmidt L. L., Cassens R. G., Briskey E. J.: J. Anim. Sci. 31, 1168, 1970.

Adres autora: prof. dr Henryk Balbierz, ul. Jana Stanki 7/2, 52-423 Wrocław.

KAZIMIERZ SZEBIOTKO, ZBIGNIEW GRZEŚKOWIAK, MICHAŁ PIASECKI, MARIA POLAK

Mocznik w paszach przemysłowych i jego ilościowe oznaczanie

Z Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego AR w Poznaniu

W piśmiennictwie spotyka się szereg metod fizyko-chemicznych ilościowego oznaczania mocznika w paszach. Z reguły metody te oparte są na rozkładzie mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla pod wpływem ureazy. Ilość uwolnionego amoniaku określa się poprzez miareczkowanie mianowanym kwasem bądź też kolorymetrycznie.

Szwabowicz (5) zaleca prowadzić rozkład mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla pod wpływem ureazy zawartej w ziarnie soi. Wydzielony amoniak odmiareczkuje się przy pomocy mianowanego kwasu solnego. Loosli (3) prowadził rozkład mocznika także przy pomocy ureazy, gdzie uwolniony amoniak wiązał z $2n \text{ H}_2\text{SO}_4$ na drodze mikrodryfuzji. Końcowym etapem tego oznaczenia było wywołanie reakcji barwnej z odczynnikiem Nesslera i kolorymetryczny pomiar intensywności barwy. Hartfiel (2) proponuje metodę ilościowego oznaczania mocznika, której zasada polega na reakcji mocznika z octanem uranylu w środowisku utleniającym (dodatek KMnO_4). Związany amoniak oznacza się metodą Kiejdahla. Do znanych należy także metoda oznaczania mocznika przy pomocy ksanthidrolu podana przez Bauera (1). Metoda sprowadza się do związania mocznika z ksanthidrolem w dwuksantylomocznik w obecności lodowatego kwasu octowego i wagowego oznaczenia osadu. Owsiejczuk (4) proponuje oznaczanie mocznika w paszach sypkich na zasadzie wykorzystania reakcji mocznika znajdującego się w stężonych roztworach alkoholowych z kwasem szczawowym. W wyniku tej reakcji powstaje szczawian mocznika, który jest nierozpuszczalny w benzenie. Związany w ten sposób mocznik oznacza się metodą Kiejdahla.

Jak wynika z przedstawionej literatury istnieje kilka sposobów oznaczania mocznika w paszach. Niemniej przy zastosowaniu ich do seryjnej kontroli w przemyśle napotkano na szereg trudności, między innymi braki aparatu-

turowe, dużą pracochłonność i często małą dokładność.

W ramach niniejszej pracy starano się określić przydatność znanych sposobów ilościowego oznaczania mocznika oraz adoptować niektóre z proponowanych metod. Między innymi adoptowano metodę Loosli i Mc Donalda oraz zmodyfikowano metodę proponowaną przez Szwabowicza. Jak wykazały badania przy zastosowaniu metody Szwabowicza napotyka się na następujące trudności:

1. przy ilościowym oznaczaniu mocznika w paszach o różnym odczynie (pH powyżej lub poniżej wartości 6) uzyskane wyniki obciążone są błędem (zawyżone lub zaniżone),

2. ziarno soi proponowane jako źródło enzymu posiada różny odczyn a także zmienną aktywność enzymatyczną,

3. przy koncentratkach mocznikowych nieusunięty wydzielony amoniak przyczynia się do zahamowania dalszego procesu reakcji a tym samym uniemożliwia całkowite oznaczenie mocznika.

Materiały i metody

1. Surowce

- 1.1. Suszone wysłodki buraczane melasowane z dodatkiem mocznika krystalicznego (receptura własna).

- 1.2. Wysłodki buraczane z dodatkiem nieoddrożowanego zagęszczanego wywaru pomelaso-owego z melasem oraz z dodatkiem mocznika krystalicznego (receptura własna).

- 1.3. Mieszanka paszowa „B” produkowana w kilku zakładach (wg Normy Polskiej).

- 1.4. Pasza treściwa (wg Normy Polskiej).

- 1.5. Koncentrat mocznikowy z udziałem suszonych wysłodków buraczanych i innych dodatków (receptura własna).

2. Zmodyfikowana metoda ilościowego oznaczania mocznika wg Szwabowicza

- 2.1. Odczynniki: 0,1n NaOH, 0,1n HCl, 2% H_3BO_3 , 0,01n H_2SO_4 , wskaźnik Tashiro, mocznik krystaliczny, ureaza krystaliczna lub ziarno soi (wyciąg z ziarna soi przygotowuje się przez ekstrakcję wodną w temp. 30°C w stosunku ziarna do wody 1:20).