

Majewski T., Ruda M., Waligóra J. — The influence of vitamin A+D<sub>3</sub>, E and microelements (Cu, Mn, Zn) on some blood indices of sows in a litter pigshed

The examinations were performed on 36 young sows genetically equalized, which were given vitamin A+D<sub>3</sub>, E, and minerals, i.e. Cu, Mn and Zn in the course of breeding cycle. The blood was taken during

covering, at 30 and 90 day of pregnancy, and at 1—3, 21 and 42 day of lactation. The administration of microelements influenced significantly the level of haemoglobin since the 90th day of pregnancy. The use of microelements or microelements plus vitamins had a significant influence on the level of Zn in sera since the 90th day of pregnancy and Cu from the beginning of lactation.

ALEKSANDRA MALINOWSKA, ANTONI SCHOLLENBERGER \*

## Wpływ stosowania mieszanki Monomix w żywieniu bukatów na aktywność alanyloaminopeptydazy (AAP) w surowicy i w moczu bukatów

Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,  
ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa  
\*Katedra Patologii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,  
ul. Grochowska 272, 03-949 Warszawa

Alanyloaminopeptydaza jest enzymem mało poznanym. Przejawia niską specyficzność w stosunku do odszczepianego aminokwasu, co cechuje również inne aminopeptydazy. Niektóre z nich jak np. leucyloaminopeptydaza lub cystynyloaminopeptydaza doczekały się jednak szerszych badań i mają określoną pozycję w opracowaniach enzymologicznych. AAP nadal oczekuje takiego opracowania.

Zainteresowanie tym enzymem obserwowane w ostatnich latach, spowodowało zmianę jego miejsca w klasyfikacji enzymów, z podpodklasy 1 został przeniesiony do 11, gdzie znajdują się wszystkie aminopeptydazy. Jung i Wischke (5) oraz Trollfors i wsp. (9) w swoich publikacjach z 1984 r. podają jako aktualną klasyfikację AAP: 3.4.11.2. Enzym ten rozszczepia hydrolitycznie L-alanylo- $\beta$ -naftyloamid, a w mniejszym stopniu naftyloamidy innych aminokwasów oraz niektóre peptydy.

Badania nad aktywnością AAP doprowadziły do wykrycia jej w wielu tkankach, z których następnie została wyizolowana i oczyszczona. Z różnych narządów człowieka wydzielono poszczególne izoenzymy, różniące się masą cząsteczkową, co wskazuje na oligomeryczny charakter jej budowy. Największą ruchliwość w polu elektrycznym przejawia izoenzym wątrobowy.

Podjęmowane badania histochemiczne wykazały, że AAP jest związana z błonami komórkowymi. Stwierdzono jej obecność w rąbku szczoteczki nabłonków jelita cienkiego, kanalików żółciowych oraz kanalików proksymalnych nerek. Jung i Wischke (5) badali pośrednio pochodzenie AAP występującej w moczu ludzkim metodą elektroforetyczną i stwierdzili obecność dwóch form o różnej ruchliwości. Jedną z tych form, określoną jako rozpuszczalną, zawiera w swojej cząsteczce kwas neuraminowy. Druga forma jest związana z fragmen-

tami struktur komórkowych. Ta druga forma została wykryta także w surowicy w warunkach patologicznych, prawdopodobnie na skutek uwalniania fragmentów błon krwinek, bądź komórek innych tkanek, względnie na skutek asocjacji formy rozpuszczalnej z lipoproteidami surowicy. Wspomniani autorzy uważają, że w moczu osób zdrowych nie występuje enzym pochodzenia surowiczego, ponieważ zdrowe kłębuszki nerkowe uniemożliwiają jego filtrację. W moczu fizjologicznym występuje na ogół forma rozpuszczalna. Forma związana z uwalnianymi błoniastymi fragmentami rąbka szczoteczki stanowi około 45%.

W ostatnich latach podjęto szereg prób badania tego enzymu w odniesieniu do schorzeń nowotworowych u ludzi. Hütter i wsp. (4) porównywały właściwości AAP wyodrębnionej z raka wątroby oraz jajników, a także jego przerzutów do dwunastnicy, a enzymem wyodrębnionym z łożyska. Stwierdzono występowanie między nimi znacznych różnic we właściwościach chemicznych i fizycznych. Gärtner i wsp. (3) próbowali wykorzystać oznaczenie aktywności AAP i fosfatazy alkalicznej w celu wczesnego rozpoznania przerzutów do tkanki kostnej. Wyniki nie były jednak zadowalające.

Trollfors i wsp. (9) obserwowali u ludzi wzrost aktywności AAP w moczu po podaniu aminoglukozydów, jakimi są niektóre antybiotyki np. gentamycyna lub tobramycyna. Wzrost aktywności enzymu próbowali wiązać z działaniem nefrotoksycznym tych substancji. Stwierdzili jednak, że tego rodzaju badanie nie może mieć większego znaczenia klinicznego.

Występowanie AAP i zmiany jej aktywności w moczu — materiale łatwo dostępnym sprawia, że w ostatnim okresie badania nad tym enzymem są stale podejmowane, a metodyka oznaczania jego aktywności upraszczana (Evans 2). Ponieważ w dostępnym piśmiennictwie spot-

kano jedynie wycinkowe dane o aktywności AAP u zwierząt, przeważnie laboratoryjnych, podjęto badania w surowicy i moczu różnych grup bydła, a także u opasów żywionych w dwojaki sposób. Ponieważ mieszankę Monomix użytą w części doświadczalnej pracy stosuje się w celu uzyskania większych przyrostów bydła opasowego, a te są związane z intensyfikacją wielu procesów anabolicznych, a w szczególności metabolizmu białkowego, z którym jest związana również AAP, postanowiono także przesledzić jak podczas 120 dni doświadczenia zmienia się proteinogram surowicy bukatów.

#### Material i metody

Badania przeprowadzono u bydła rasy neb pochodzącego z PGR Białaczów (woj. piotrkowskie) z obór uznanych za wolne od gruźlicy i brucelozy. Zwierzęta były żywione zgodnie z Polskimi Normami Żywienia Zwierząt. Wyodrębniono 3 grupy bydła liczące po 10 sztuk. Pierwszą grupę określoną jako cielęta, stanowiły cieliczki w wieku 3 miesięcy o średniej masie ciała 95,8 kg. Drugą grupę określoną jako bukaty, stanowiły buhajki w wieku około 12 miesięcy i średniej masie ciała 280,2 kg. Trzecia grupa obejmowała krowy w 4 laktacji, 3 miesiącu ciąży. Średnia wydajność 3 laktacji wynosiła 3800 kg mleka od sztuki rocznie. Średnia masa ciała wynosiła 550 kg. Od zwierząt wymienionych 3 grup materiał do badań pobrano jednorazowo.

Część doświadczalną pracy wykonano u 20 buhajków w wieku około 12 miesięcy o masie ciała od 250 do 300 kg, przeznaczonych do opasu. Przebywały one w bezściołowej bukiarni z automatycznymi poidłami w przeciętnych warunkach hodowlanych. Zwierzęta podzielono na 2 równe grupy. Bukaty grupy doświadczalnej były żywione identycznie jak bukaty grupy kontrolnej, z tym jednak, że doświadczalne otrzymywały dodatkowo mieszankę mineralno-witaminową Monomix prod, Kutnowskich Zakład. Farm. „Polfa” w ilości 0,27 g na 1 kg masy ciała. Dawkę mieszanki korygowano co 10 dni w stosunku do masy ciała. Krew i mocz od wszystkich bukatów pobierano co 30 dni. Bukaty doświadczalne otrzymywały Monomix od 1 dnia pobrania materiału (termin 0) do 120 dnia tj. 5 pobrania (termin 4).

Aktywność AAP badano metodą opracowaną przez Haschena (8), używając jako substratu chlorowodoru L-alanylo- $\beta$ -naftyloamidu f-my Sigma Chem. Comp. Reakcję barwną przeprowadzano w środowisku kwaśnym z p-dwumetylobenzaldehydem. Ponieważ oznaczenia aktywności AAP w moczu ludzkim były zwykle wykonywane w próbie z całonocnej ilości, u buhajków kontrolnych i doświadczalnych oznaczano także gęstość moczu jako wykładnik jego ilości dobowej. Została ona uwzględniona przy wyliczaniu aktywności enzymu w moczu bukatów. U bydła w pozostałych grupach nie mierzono gęstości moczu.

W moczu wszystkich zwierząt przeprowadzono analizę chemiczną oraz badanie mikroskopowe osadu, w celu kontroli zdrowotności. Aktywność enzymu oznaczano w moczu niedializowanym.

W surowicy bukatów kontrolnych i doświadczalnych, oprócz aktywności AAP oznaczono także zawartość białka całkowitego metodą refraktometryczną oraz wydzielono jego frakcje metodą elektroforezy biułowej. Wartości procentowe przeliczono na ilość każdej frakcji.

Wyniki badań opracowano statystycznie. Dla każdej grupy wyliczono wartość średnią oraz odchylenie standardowe. Dla oceny wyników u bukatów grupy kontrolnej i doświadczalnej przeprowadzono jednokie-

Tab. 1. Aktywność alanyloaminopeptydazy (AAP) w surowicy i w moczu bydła w różnym wieku w  $\mu\text{kat}/\text{dm}^3$  ( $\bar{x} \pm s$ )

Bydło	Surowica	Mocz
Cielęta	27,07 4,38	41,25 8,71
Bukaty	33,75 7,32	90,02 22,28
Krowy mleczne	15,00 4,43	34,29 7,79

runkową analizę wariancji i zastosowano test F. Dla porównania wyników wyliczono najmniejszą istotną różnicę według Tukeya.

#### Wyniki i omówienie

Aktywność alanyloaminopeptydazy u bydła w różnym wieku przedstawiono w tab. 1. W surowicy cieląt i bukatów aktywność jest około 2-krotnie wyższa aniżeli w surowicy krów mlecznych. Interesujący wydaje się fakt, że aktywność w moczu bydła kształtuje się na wyższym poziomie niż w surowicy i największe wartości osiąga u bukatów, u których wartości średnie są ponad 2-krotnie wyższe w porównaniu z pozostałymi grupami. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano danych dotyczących tego enzymu u bydła, a tylko wyniki badań u ludzi. Przeliczenie danych nt. aktywności AAP u ludzi przedstawionych przez Szczeklika (8) na jednostki użyte w obecnej pracy wskazuje, że aktywność w surowicy ludzkiej jest kilkunastokrotnie wyższa aniżeli w surowicy bydłowej, natomiast wartości w moczu są zbliżone. Peters i wsp. (7) wykryli w moczu ludzkim zmiany zależne od wieku i płci.

Otrzymane w obecnych badaniach wyniki w surowicy wskazują, że wyższa aktywność AAP występuje w grupach zwierząt w okresie wzrostu organizmu. Wyższa aktywność tego enzymu w moczu osobników męskich może nasuwać przypuszczenie, że pewna ilość enzymu może przedostawać się z układu rozrodczego, prawdopodobnie z gruczołów piciowych dodatkowych. Potwierdzeniem tego przypuszczenia może być notowane znaczne podwyższenie aktywności AAP w moczu mężczyzn z rakiem prostaty (8).

Wyniki zamieszczone w tab. 2 wskazują, że w 120 dniu doświadczenia (termin 4) następuje istotne obniżenie aktywności enzymu w surowicy bukatów zarówno kontrolnych, jak i doświadczalnych. Nie stwierdzono natomiast żadnych istotnych różnic, które można by wiązać z wprowadzeniem do diety mieszanki Monomix.

Wyniki dotyczące aktywności AAP w moczu bukatów są bardziej interesujące niż w surowicy, występują bowiem różnice między grupami zwierząt. U bukatów kontrolnych nie stwierdzono istotnych różnic między wynikami w poszczególnych terminach badań, aczkolwiek

Tab. 2. Aktywność alanyloaminopeptydazy (AAP) w surowicy i w moczu bukatów kontrolnych (k) i doświadczalnych (d) w  $\mu\text{kat}/\text{dm}^3$  ( $\bar{x} \pm s$ )

Materiał	Terminy badań		0		1		2		3		4	
	Grupy											
Surowica	k		33,92	9,21	34,89	9,71	39,59	6,40	32,04	9,29	17,25	5,61 <sup>x</sup>
	d				28,29	6,52	35,42	6,96	31,42	10,05	22,66	5,69 <sup>x</sup>
Mocz	k		111,07	22,43	96,53	16,90	83,14	11,40 <sup>o</sup>	92,87	17,43	113,96	30,03 <sup>o</sup>
	d				83,91	14,29	124,19	30,63 <sup>o</sup>	112,60	30,09	152,17	40,19 <sup>o</sup> x

Objaśnienia: x — istotność różnicy w terminach badań przy  $p \leq 0,05$ , o — istotność różnicy między grupą k i d przy  $p \leq 0,05$ .

Tab. 3. Zawartość białka całkowitego i jego frakcji w surowicy bukatów kontrolnych (k) i doświadczalnych (d) w  $\text{g}/\text{dm}^3$  ( $\bar{x} \pm s$ )

Białko	Terminy badań		0		1		2		3		4	
	Grupy											
Białko całk.	k		62,69	6,87	79,69	11,61 <sup>x</sup>	76,75	6,62 <sup>x</sup>	77,40	4,01 <sup>x</sup>	72,20	7,43
	d				73,62	5,99	72,86	4,76	80,72	15,29	76,36	3,72
Albuminy	k		23,50	5,01	29,72	2,84 <sup>x</sup>	30,50	6,48 <sup>x</sup>	32,69	5,69 <sup>o</sup> x	21,44	4,84
	d				28,84	10,49	30,82	6,72	25,39	4,80 <sup>o</sup>	25,11	6,82
$\alpha$	k		10,51	3,03	13,12	7,48	10,73	3,24	9,42	1,53 <sup>o</sup>	12,10	2,07
	d				12,11	3,49	7,80	5,84	13,49	3,13 <sup>o</sup>	10,42	3,22
Globuliny $\beta$	k		8,10	2,99	8,52	3,89	8,98	1,81	9,33	2,83 <sup>o</sup>	11,71	3,41 <sup>x</sup>
	d				11,35	3,44	6,82	3,45	12,78	5,39 <sup>o</sup>	10,89	2,47
$\gamma$	k		20,56	4,87	23,31	8,48 <sup>x</sup>	26,51	1,66 <sup>x</sup>	25,94	2,19	26,93	4,59 <sup>x</sup>
	d				26,30	3,46	28,03	4,65	29,03	4,50	30,96	4,96

Objaśnienie: jak w tab. 2.

różnica średnich w 2 i 4 terminie jest bliska granicy istotności. W moczu bukatów doświadczalnych w 120 dniu podawania mieszanki Monomix notowano istotne podwyższenie aktywności. Porównanie wyników między grupą kontrolną a doświadczalną w poszczególnych terminach przy pomocy najmniejszej istotnej różnicy, wyliczonej dla wszystkich terminów ( $\text{NIR} = 26,56$ ) wskazuje, że między obydwoma grupami w 2 terminie badania różnica jest istotna, w 3 terminie różnica jest duża, lecz nieistotna, a w 4 terminie różnica jest także istotna. Można zatem stwierdzić, że od 30 dnia podawania mieszanki Monomix aktywność AAP w moczu bukatów znacznie wzrasta. Na podstawie przeprowadzonych badań nie można jednak wytłumaczyć tego zjawiska, ponieważ nie wiadomo jakiego pochodzenia jest enzym występujący w zwiększonej ilości w moczu.

Badania Brudnickiego (1) wykazały, że podawanie mieszanki Monomix spowodowało zwiększenie dziennych przyrostów bukatów o ponad 200 g w porównaniu z kontrolnymi, co niewątpliwie miało wpływ na metabolizm białek oraz proteinogram surowicy. Jak podaje

Kaneko (6) w okresie wzrostu u wszystkich zwierząt obserwuje się wzrost zawartości białka całkowitego i globulin, a obniżenie ilości albumin.

Wyniki otrzymane u bukatów (tab. 3) w obydwu grupach zwierząt przejawiają także tego rodzaju tendencje. Badanie istotności różnic dla poszczególnych terminów badań każdej grupy na podstawie najmniejszej istotnej różnicy, wykazało częstsze występowanie istotnych różnic u zwierząt kontrolnych. Wynika to zapewne z mniejszego rozrzutu wyników w tej grupie zwierząt.

Porównanie wyników między grupami, wykazało istotność różnic w 3 terminie badań tj. w 90 dniu podawania mieszanki. U bukatów kontrolnych istotnie obniżyła się ilość albumin, a wzrosły wartości frakcji globulin. Na uwagę zasługuje fakt, że w surowicy bukatów doświadczalnych stopniowo narasta ilość frakcji  $\gamma$ -globulinowej.

Na podstawie przeprowadzonych badań białek surowicy nie można sądzić, aby podawanie mieszanki Monomix powodowało znaczące zmiany w proteinogramie surowicy bukatów.

## Piśmiennictwo

1. *Brudnicki W.*: Wpływ stosowania mieszanki Monomix w żywieniu bukatów na zawartość wybranych składników mineralnych w surowicy krwi i moczu oraz na wskaźniki hematologiczne. Praca dokt. SGGW-AR, Warszawa 1983.
2. *Evans G. O.*: Clin. Bioch. 31, 652, 1985.
3. *Gärtner Chr., Rose H., Hempel R. D., Kunze R. D.*: Radiobiol. Radiother. 24, 331, 1983.
4. *Hütter H. J., Böhme L., Kluge R.*: Z. med. Laboratoriums diagn. 26, 58, 1985.
5. *Jung K., Wischke U. W.*: Clin. Chem. 30, 856, 1984.
6. *Kaneko J. J.*: Serum proteins and the dysproteinemias, w: Clinical biochemistry of domestic animals, Wyd. J. J. Kaneko, Acad. Press, London, 1980.
7. *Peters J. E., Schneider I., Haschen R. J.*: Clin. chim. Acta 36, 280, 1972.
8. *Szczekił E.*: Enzymologia kliniczna, PZWL, Warszawa 1974.
9. *Trollfors B., Bergmark J., Hiesche K., Jagenburg R.*: Infection 12, 20, 1984.

Adres autora: prof. dr habil. Aleksandra Malinowska, ul. Malawskiego 1 m. 31, 02-641 Warszawa

Малиновская А., Шолленбергер А. — Влияние применения смеси в кормлении убойных телят на активность аланиламинопептидазы (ААР) в сыворотке и моче телят

Исследование активности аланиламинопептидазы провели в 3 возрастных группах скота, насчитывающих по 10 голов. Для исследований использовали сыворотку крови и мочу телочек, бычков и молочных коров. Сверх того исследовали 20 бычков, разделенных на 2 равные группы. Подопытная группа получала как добавку к корму витаминно-минеральную смесь Monomix в течение 120 дней. У этих животных кроме исследования активности энзима в сыворотке и моче определяли также содержание полного белка и его фракций в сыворотке.

На основе результатов проведенных исследований можно констатировать, что сыворотка скота показывает небольшую активность аланиламинопепти-

дазы существенно понижающуюся с возрастом животных. У убойных телят отчетливое понижение наблюдается особенно в последний срок исследования. Активность этого энзима в моче убойных телят ок. 2-кратно выше чем и телочек и молочных коров. После 30 дней задавания убойным телятам смеси Monomix активность ААР в их моче растет. Применение смеси не вызвало существенных изменений в протеинограмме сыворотки убойных телят.

Malinowska A., Schollenberger A. — The influence of Monomix (feed) used in the nutrition of calves past the vealer stage on the activity of alanylaminopeptidase in the serum and urine

The activity of alanylaminopeptidase was tested on three age groups of cattle, each containing 10 animals. The serum and urine of calves, young bulls and milking cows were used. In addition, the examinations were performed on 20 young bulls divided into 2 groups. A control group was being given as a supplement Monomix (mash with vitamins and minerals) for 120 days. In this group, apart from the enzyme assay, the content of total protein and its fractions were tested. It was found that alanylaminopeptidase in the bovine serum was not very active and decreased along with the age of animals. In calves past the vealer stage its concentration was considerably lower in the last term of examination. The activity of the enzyme in the urine of the animals was twice higher than in female calves and milking cows. The activity of alanylaminopeptidase following Monomix feeding increased in animals after 30 days its employing. The usage of the mash did not cause any essential changes in the proteinogram of the sera coming from calves after the vealer stage.

## FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

STANISŁAW BARANOW-BARANOWSKI, KRZYSZTOF JANUS

### Metody oznaczania wielkości przestrzeni wodnych w żywym organizmie

Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Dr. Judyńca 6, 71-466 Szczecin

Woda stanowi niezbędną, niezastąpioną część składową każdego żywego organizmu, spełniając w nim szereg bardzo ważnych funkcji. Pełni ona rolę rozpuszczalnika, uczestniczy w procesach trawienia i wchłaniania, stanowi środowisko przebiegu reakcji biochemicznych i dyfuzji elektrolitów. Woda przenika swobodnie przez błony komórkowe, stanowiąc czynnik integrujący każdy żywy organizm.

Całkowita woda — TBW (Total Body Water) zawarta w organizmie zwierzęcym podzielona jest przez błony komórkowe na szereg przestrzeni płynowych, do których należą płyny: pozakomórkowy i wewnątrzkomórkowy.

Płyn pozakomórkowy stanowi środowisko otaczające każdą żywą komórkę, wymieniającą z

nim wszystkie pobierane i wydalane substancje. Jego skład zbliżony jest do tego, jaki istniał w wodzie pierwotnych oceanów, z których wywodzą się organizmy zwierzęce. Płyn pozakomórkowy jest heterogenny, w jego skład wchodzi następujące fazy: a) szybko wymienialna — składająca się z osocza krwi i płynu międzykomórkowego, b) wolnowymienialna — obejmująca płyn tkanki łącznej. Wymienione 2 fazy są częściami składowymi czynnej przestrzeni pozakomórkowej. Szczególnym rodzajem płynu pozakomórkowego jest płyn transcelularny znajdujący się w przewodzie pokarmowym, drogach moczowych, jamach surowiczych, komórkach oka. Do płynu transcelularnego zalicza się także płyn mózgowo-rdzeniowy. Płyn transcelular-