

TOMASZ MOTYL, JOZEF JASINSKI*

Związki pirymidynowe i purynowe w osoczu krwi, moczu i mleku krów zdrowych i chorych na enzoptyczną białaczkę

Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR
ul. Nowoursynowska 166, 02-975 Warszawa
* PZLZ Sejny, ul. Łąkowa 5, 16-500 Sejny

Tkanki nowotworowe, zwłaszcza nowotworów złośliwych, charakteryzuje szybszy ogólny obrót (turnover) kwasów nukleinowych w porównaniu z tkankami zdrowymi. Warunkuje to ich szybką proliferację. Pod pojęciem turnover kwasów nukleinowych kryją się zarówno zjawiska ich syntezy, jak i katabolizmu. Intensywna synteza kwasów nukleinowych w tkankach nowotworowych wymaga ciągłego, zwiększonego dopływu nukleotydów pirymidynowych i purynowych, uwarunkowanego wzrostem aktywności enzymów i dostępności substratów w komórkach nowotworowych. Aoki i wsp. (4) stwierdzili, że szybkość proliferacji wątrobiaków jest dodatnio skorelowana z aktywnością syntezy karbamoilofosforanowej II, pierwszego i limitującego enzymu syntezy nukleotydów pirymidynowych. Wyższa aktywność tego enzymu wynika z 10-krotnie większego tempa syntezy w komórkach wątrobiaka niż w hepatocytach zdrowej wątroby (15). Jednym z metabolitów pośrednich w syntezie nukleotydów pirymidynowych *de novo* jest kwas orotowy. Spośród wszystkich metabolitów tej syntezy posiada on największe zdolności „przeciekania” przez błonę komórkową do płynu pozakomórkowego, krwi i moczu (28), przez co może być „dostępnym” wskaźnikiem syntezy nukleotydów pirymidynowych *de novo*. Szybkość wbudowywania kwasu orotowego w kwasy nukleinowe, a przez to i zapotrzebowanie na ten związek jest znacznie większe w komórkach nowotworowych niż zdrowych (3, 17, 22). Hamowanie syntezy kwasu orotowego przez acwicynę (12) lub blokowanie jego przemian przez allopurynol (16) lub 6-azaurydynę (11) wykorzystywane jest w terapii chorób nowotworowych. Zastosowanie wyżej wymienionych związków cytostatycznych manifestuje się spadkiem bądź drastycznym wzrostem wydalania kwasu orotowego w moczu.

Wskaźnikami turnoveru kwasów nukleinowych są zmodyfikowane nukleozydy wytwarzane w łańcuchach RNA na etapie posttranskrypcyjnym, przede wszystkim w reakcjach metylacji. Zmodyfikowane nukleozydy pochodzące z katabolizmu RNA nie są ponownie wykorzystywane w syntezie nukleotydów i w całości wydalone są w moczu. Dało to podstawę do wykorzystania pseudourydyny, 7-metyloguaniny i N², N²-dwumetyloguanozyny jako wskaźników oceny turnoveru rRNA, mRNA i tRNA (20, 21). Najwięcej zmodyfikowanych nukleozydów zawiera

tRNA, przy czym wśród nich dominuje pseudourydyna, która wydalana jest w ilościach 10 do 100 razy większych niż inne zmodyfikowane nukleozydy (20, 21, 24). Wydalanie pseudourydyny w moczu wzrasta w chorobach nowotworowych, szczególnie w przypadkach nowotworów złośliwych. Stwierdzono zwiększone wydalanie tego związku u ludzi z rakiem wątroby (27), płuc (26), czerniakiem (6), chłoniakiem (14, 19), szpiczakiem mnogim (24) i różnymi typami białaczek (8, 9, 10, 13). Wzrasta także poziom pseudourydyny w osoczu krwi u pacjenta z chłoniakiem, wątrobiakiem, rakiem oskrzeli, rakiem piersi oraz ostrą białaczką limfoblastyczną (18).

Wśród chorób nowotworowych wykrywanych u zwierząt, problemem międzynarodowym jest enzoptyczna białaczka bydła. Obecnie stosowane testy serologiczne, wśród których najpowszechniejszym jest test immunodiffuzji w żelu agarowym, pozwalają na wczesne wykrycie białaczki. Duże znaczenie mają również wskaźniki morfologiczne oraz biochemiczne krwi, moczu i mleka. Abramova i wsp. (1) podali bardzo szeroki przegląd danych literaturowych, często sprzecznych, dotyczących poziomu metabolitów, mikro- i makroelementów oraz aktywności enzymów w tkankach, mleku i moczu u bydła chorego na białaczkę. Uogólniając te dane można powiedzieć, że w krwi bydła białaczkowego występuje: spadek poziomu albumin, glukozy (połączony ze zmniejszeniem zawartości glikogenu wątrobowego) i fosfolipidów, natomiast wzrost poziomu trójglicerydów ciał ketonowych i wolnych aminokwasów. W krwi stwierdza się ponadto wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej, katalazy, transaminazy alaninowej i asparaginianowej, karbamoiltransferazy ornitynowej oraz spadek aktywności lipazy. Z punktu widzenia tematyki niniejszej pracy na uwagę zasługuje wzrost zawartości DNA i RNA w krwi (zależny od całkowitej liczby leukocytów), a także w śledzionie, wątrobie, nerkach, sercu, węzłach chłonnych oraz mleku (1). W moczu cytowani autorzy opisują wzrost wydalania barwników żółciowych, aminokwasów oraz alantoiny i kwasu moczowego. Mimo licznych prac opisujących poziom we krwi oraz wydalanie w moczu związków pirymidynowych jako wskaźników syntezy oraz katabolizmu kwasów nukleinowych u ludzi z nowotworami złośliwymi, nie spotkano w dostępnej literaturze prac dotyczących możliwości wykorzystania tych wskaź-

zników w diagnostyce enzoptycznej białaczki b, dła. Zastosowanie bardzo czulej metody, opartej na chromatografii wysokosprawnościowej dało możliwość precyzyjnego oznaczania związków pirymidynowych i purynowych w osoczu krwi i moczu, co było trudne do wykonania dotychczasowymi metodami.

Celem podjętych badań było porównanie wskaźników syntezy i katabolizmu kwasów nukleinowych w osoczu krwi, moczu i mleku u krów zdrowych i chorych na enzoptyczną białaczkę.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 56 krowach rasy ncb w PGR Burbiszki, Poluńce i Sztabinki w województwie suwalskim. Wykonano dwa doświadczenia: 1 — w styczniu 1987 r., 2 — we wrześniu 1987 r.

Doświadczenie 1

Celem doświadczenia było porównanie poziomu związków pirymidynowych i purynowych w osoczu krwi, moczu i mleku u krów wykazujących dodatnią i ujemną reakcję serologiczną na antygen wirusa białaczki bydłowej. Do oznaczenia reakcji serologicznej krów zastosowano test immunodifuzji w żelu agarowym firmy Behringwerke. Na podstawie wyniku testu krowy podzielono na grupę kontrolną i białaczkową. Dzienna dawka pokarmowa krów składała się z następujących pasz: 10 kg kiszonki, z traw, 5 kg siana łąkowego, ok. 50 l wywaru gorzelnianego żytniego + słoma, 10 kg wyśrodków buraczanych mokrych oraz 1—3 kg mieszanki „B” zależnie od wydajności. Krowy karmiono o godzinie 5.00 i 14.00. Wodę z wierzęta miały do woli. Od wszystkich zwierząt pobrano jednokrotnie próby krwi, moczu i mleka. Pobieranie krwi i moczu wykonywano między godziną 10.00 a 12.30. Krew pobierano z żyły jarzmowej do szklanych probówek wirnikowych. Po wytworzeniu skrzepu surowicę oddzielano przez wirowanie i zamrażano do analiz.

Mocz pobierano cewnikiem z pęcherzyka moczowego i zamrażano. W dniu pobrania mleko od każdej krowy ważono, a zbiorczą próbkę mleka z rannego i wieczornego udoju zamrażano. W surowicy krwi oznaczano: kwas moczowy, cytozynę, pseudourydynę, cytydynamę, ksantynę, hipoksantynę i urydynę metodą chromatografii wysokosprawnościowej (23). Tą samą metodą oznaczano kwas orotowy, pseudourydynę i kreatyninę w moczu. Wykorzystano w niej izokratyczny chromatograf „Beckman 220” z UV detektorem „Beckman 153” zaopatrzonym w filtr 254 nm i ultrasferyczną kolumnę ODS 5 μm , $4,6 \times 250$ mm. Do rejestracji i integracji wyników użyto integrator-rejestrator „Shimadzu C-R3A”. Fazę ruchomą stanowił roztwór 0,1 M KH_2PO_4 w 1% metanolu (V/V) o pH 5,9, pompowany z szybkością 1 ml·min⁻¹. Surowicę krwi oraz mocz odbiałano 6% zimnym TCA, po czym wirowano (2500×g) i supernatant ekstrahowano 3-krotnie eterem dwuetylowym. Fazę wodną sączone przez sączki o porach 0,45 μ (Sartorius membranfileter) i 20 μl wstrzykiwano na kolumnę.

W próbkach mleka oznaczano kwas orotowy stosując kolorymetryczną metodę Stajnera i wsp. (25).

Doświadczenie 2

Celem doświadczenia było porównanie poziomu związków pirymidynowych i purynowych w osoczu krwi, moczu i mleku u krów zdrowych i krów białaczkowych z wyraźną leukocytozą. Dodatkowym celem było zbadanie wpływu karmienia na oznaczane wskaźniki. W realizacji tego celu w pierwszym rzędzie obliczono liczbę leukocytów i udział w nim limfocytów u krów wykazujących dodatnią reakcję serologiczną w doświadczeniu 1. Spośród nich wybrano 4 krowy o największej ilości leukocytów, tworząc z nich grupę

doświadczalną. Do drugiej grupy — kontrolnej wybrano 4 krowy zdrowe o podobnych parametrach hodowlanych i wydajności. Średni wiek krów, masa ciała i wydajność mleczna wynosiła w grupie kontrolnej odpowiednio: 7 lat, 506 kg i $7,9 \text{ l} \times 24 \text{ h}^{-1}$, natomiast w grupie doświadczalnej odpowiednio: 8 lat, 504 kg i $6,7 \text{ l} \times 24 \text{ h}^{-1}$. Krowy grupy kontrolnej i doświadczalnej żywiłone były identycznie, tzn. między godziną 6.00 a 16.00 przebywały na pastwisku, natomiast o 16.00 otrzymały zielonkę z koniczyny do woli. Od wszystkich krów pobrano dwukrotnie w ciągu jednego dnia krew z żyły jarzmowej oraz mocz z pęcherza moczowego.

Pierwsze pobranie wykonano przed pastwiskiem o godz. 5.00, natomiast drugie o godzinie 18.00. Tego samego dnia pobrano również próbki mleka z rannego udoju. W pełnej krwi oznaczano liczbę leukocytów oraz procentowy udział poszczególnych krwinek białych, (rozmaz krwi). W osoczu krwi oznaczano poziom kwasu moczowego, pseudourydyny i kreatyniny, opisaną wcześniej metodą chromatografii wysokosprawnościowej. W próbkach mleka oznaczano stężenie kwasu orotowego metodą kolorymetryczną Stajnera i wsp. (25).

Uzyskane wyniki poddano obliczeniom statystycznym stosując test t-Studenta oraz dwukierunkową analizę wariancji. Współczynniki korelacji oraz linie regresji obliczono metodą najmniejszych kwadratów. Istotność współczynników korelacji sprawdzono testem t. Porównanie współczynników kierunkowych regresji wykonano również testem t.

Wyniki wyrażono w postaci wartości średnich wraz z błędem standardowym. Różnice między średnimi oznaczeniami na poziomie istotności $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

Wyniki i omówienie

Doświadczenie 1

W tab. 1 przedstawiono poziom związków pirymidynowych i purynowych w surowicy krwi krów wykazujących ujemną (kontrola) i dodatnią (białaczka) reakcję serologiczną w tęście białaczkowym. Krowy reagujące dodatnio wykazywały średni wyższy poziom większości oznaczanych związków w surowicy krwi niż krowy reagujące ujemnie. Różnice te jednakże okazały się statystycznie istotne tylko w przypadku kwasu moczowego i ksantyny.

Wydalanie kwasu orotowego i pseudourydyny w moczu krów wyrażono w μmol badanego związku na mmol kreatyniny (tab. 2). Nie zanotowano istotnych różnic w wydalaniu kwasu orotowego i pseudourydyny w moczu krów kontrolnych i białaczkowych. W porównaniu tym uwzględniono wydajność mleczną krów. Okazało się, że współczynniki kierunkowe regresji dla krów kontrolnych i białaczkowych nie różnią się istotnie przy współzależności zarówno między wydajnością mleczną a wydalaniem kwasu orotowego, jak i wydajnością mleczną a wydalaniem pseudourydyny w moczu.

Średnie stężenie kwasu orotowego w mleku u krów z ujemnym i dodatnim odczynem serologicznym na białaczkę wynosił odpowiednio: $0,847 \pm 0,075$ i $0,913 \pm 0,065 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Porównano przebieg linii regresji dla krów kontrolnych i białaczkowych w korelacjach między wydajnością mleczną a stężeniem kwasu orotowego w mleku oraz między miesiącem laktacji a stężeniem kwasu orotowego w mleku. Porównanie współczynników kierunkowych tych regresji nie wykazało istotnych różnic między krowami re-

agującymi ujemnie i dodatnio na serologiczny test białaczkowy.

Doświadczenie 2

Liczba leukocytów, jak też procentowy udział w nich limfocytów były istotnie większe ($p \leq 0,01$) u 4 wytypowanych krów białaczkowych niż u 4 odpowiadających im krów zdrowych (tab. 3).

Poziom kwasu moczowego i pseudourydyny w osoczu krwi krów zdrowych i białaczkowych przed i po karmieniu przedstawiono w tab. 4. Średni poziom pseudourydyny w osoczu krwi krów białaczkowych był wyższy ($p \leq 0,1$) niż u krów zdrowych. U 3 krów zdrowych i 3 białaczkowych stwierdzono wzrost poziomu kwasu moczowego w osoczu krwi po karmieniu.

Wydalenie kwasu orotowego, moczowego i pseudourydyny wyrażone w $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}$ kreatyniny⁻¹ przedstawiono w tab. 5. Wydalenie pseudourydyny w moczu wszystkich krów z leukocytozą przed karmieniem było wyższe niż w tym czasie u krów zdrowych. Bez względu na stan zdrowotny zwierząt karmienie wpłynęło na wzrost wydalania w moczu oznaczonych związków, który w przypadku kwasu orotowego okazał się statystycznie istotny.

U badanych krów białaczkowych z leukocytozą stwierdzono również wyższe stężenie kwasu orotowego w mleku: $0,845 \pm 0,206 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ niż u krów zdrowych: $0,422 \pm 0,061 \cdot \text{l}^{-1}$.

Podwyższony poziom związków pirymidynowych i purynowych oznaczonych w osoczu krwi, moczu i mleku u krów białaczkowych odzwierciedla przyspieszony metabolizm kwasów nukleinowych w tkankach tych zwierząt. Odnosi się to zwłaszcza do pseudourydyny produktu katabolizmu tRNA i częściowo rRNA, której poziom w osoczu krwi (tab. 4) oraz wydalanie w moczu było wyższe u krów białaczkowych niż zdrowych w obydwu doświadczeniach (tab. 2 i 5). Należy jednakże podkreślić, że różnice te były znacznie mniejsze niż obserwowane u ludzi zdrowych i z zaawansowanymi zmianami nowotworowymi (18, 24, 27). Oznacza to, że dodatnia reakcja serologiczna na antygen wirusa białaczki nie musi być związana z wykrywalnymi zmianami metabolizmu kwasów nukleinowych w tkankach, zwłaszcza we wczesnym stadium choroby. W doświadczeniu 1 u krów, u których stwierdzono obecność przeciwciał w osoczu krwi, średnia liczba leukocytów wynosiła $12\,297$ przy odchyleniu standardowym $\pm 12\,849$ w mm^3 krwi, a udział limfocytów $53,9 \pm 11,8\%$. Dane te wskazują na wczesne stadium białaczki u większości badanych krów i tłumaczą duże wahania osobnicze w ilości pseudourydyny wydalanej w moczu oraz kwasu orotowego wydalanego w moczu i mleku (tab. 2). Wyselekcjonowane krowy z wyraźną leukocytozą w doświadczeniu 2 (tab. 3) miały wyższy poziom pseudourydyny w osoczu krwi (tab. 4) oraz w moczu — przed karmieniem (tab. 5), a także większe stężenie

Tab. 1. Poziom kwasu moczowego, cytozyny, pseudourydyny, cytydyny, hipoksantyny, ksantyny i urydyny w surowicy krwi krów wykazujących ujemną (kontrola) i dodatnią (białaczka) reakcję w serologicznym badaniu na białaczkę

Metabolit $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	Grupa kontrolna $n = 27$	Grupa białaczkowa $n = 26$
Kwas moczowy	$99,37 \pm 8,84$	$122,47 \pm 7,68^x$
Cytozyna	$4,77 \pm 1,42$	$5,49 \pm 1,03$
Pseudourydyna	$5,25 \pm 0,33$	$5,62 \pm 0,42$
Cytydyna	$3,62 \pm 0,39$	$4,70 \pm 0,65$
Hipoksantyna	$0,33 \pm 0,29$	$0,79 \pm 0,18$
Ksantyna	niewykrywalna	$1,76 \pm 0,63$
Urydyna	$2,56 \pm 0,42$	$2,75 \pm 0,51$

Objaśnienie — istotność przy $p \leq 0,05$.

Tab. 2. Zawartość kwasu orotowego i pseudourydyny w moczu krów reagujących ujemnie (grupa kontrolna) i dodatnio (grupa białaczkowa) w serologicznym badaniu na białaczkę

Metabolit $\mu\text{mol} \cdot \text{mmol}$ kreatyniny ⁻¹	Grupa kontrolna $n = 16$	Grupa białaczkowa $n = 22$
Kwas orotowy	$47,46 \pm 3,69$	$46,57 \pm 2,05$
Pseudourydyna	$40,87 \pm 2,73$	$43,42 \pm 2,70$

Tab. 3. Liczba leukocytów oraz procentowy skład krwinek białych u krów zdrowych i chorych na enzootyczną białaczkę ($n=4$)

Wskaźnik	Krowy zdrowe	Krowy chore
Leukocyty (w 1 mm^3)	7244 ± 652 100%	35112 ± 9348 100%
w tym (%):		
Granulocyty obojętne		
Palczki	$0,5 \pm 0,5$	$1,0 \pm 1,0$
Segmenty	$40,2 \pm 3,2$	$19,0 \pm 1,3$
Granulocyty kwasochłonne	$14,5 \pm 1,0$	$5,0 \pm 1,3$
Limfocyty	$43,7 \pm 2,8$	$74,0 \pm 5,9$
Monocyty	$4,0 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,6$

Tab. 4. Poziom pseudourydyny i kwasu moczowego w osoczu krwi krów zdrowych i chorych na białaczkę przed i po karmieniu ($n=4$)

Metabolit $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	Krowy zdrowe		Krowy chore	
	przed karmieniem	po karmieniu	przed karmieniem	po karmieniu
Pseudourydyna ^x	$1,97 \pm 0,40$	$1,56 \pm 0,58$	$2,49 \pm 0,61$	$2,53 \pm 0,64$
Kwas moczowy	$67,83 \pm 7,38$	$79,06 \pm 8,53$	$68,36 \pm 13,19$	$103,57 \pm 15,76$

Objaśnienie — średni poziom pseudourydyny w osoczu krwi krów chorych (bez względu na czas pobrania próby) był wyższy niż u krów zdrowych przy $0,05 < p < 0,1$.

Tab. 5. Zawartość kwasu orotowego, pseudourydyny i kwasu moczowego w moczu krów zdrowych i chorych na białaczkę przed i po karmieniu (n=4)

Metabolit μmol·mmol ⁻¹ kreatyliny ⁻¹	Krowy zdrowe		Krowy chore	
	przed karmie- niem	po karmie- niu	przed karmie- niem	po karmie- niu
Kwas orotowy	33,53 ± 3,72	46,38 ± 6,34 *	29,87 ± 3,64	43,24 ± 2,95 *
Pseudoury- dyna	34,68 ± 4,61	44,07 ± 4,39	43,66 ± 3,09	44,15 ± 3,30
Kwas moczowy	398,72 ± 75,34	423,09 ± 73,53	297,46 ± 8,71	482,86 ± 100,44

Objaśnienie — różnice między średnimi przed i po karmieniu istotne przy $p \leq 0,05$.

kwasu orotowego w mleku niż krowy zdrowe. Różnice te nie były jednakże na tyle duże, aby oznaczane związki mogły pretendować do roli specyficznych wskaźników białaczki u bydła, przynajmniej w badanym jej stadium. Może to wynikać z niewielkich jeszcze różnic w syntezie związków pirymidynowych i katabolizmie tRNA w tkankach krów zdrowych i krów z białaczką w początkowym jej stadium. Poza tym na efekt metaboliczny białaczki u krów mlecznych nakłada się dodatkowo wpływ czynników żywieniowych oraz procesów metabolicznych zachodzących w gruczole mlekowym.

Intensywna synteza i katabolizm kwasów nukleinowych w przewodzie pokarmowym oraz w gruczole mlekowym sprawia, że ocena metabolizmu kwasów nukleinowych w tkankach bydła mlecznego na podstawie wskaźników w krwi i moczu jest szczególnie skomplikowana i trudna. Wpływ systemu żywienia uwidacznia się już w różnicach między średnimi poziomami związków w krwi, moczu i mleku u krów w doświadczeniach 1 i 2. Efekt metaboliczny karmienia w obrębie tego samego systemu żywienia wyraźny jest w wynikach doświadczenia 2, gdzie obserwuje się wzrost wydalania oznaczanych metabolitów po karmieniu (tab. 5). Zjawisko to może być zarówno efektem zwiększonej absorpcji związków pirymidynowych i purynowych z przewodu pokarmowego, jak również przyspieszonego ich turnover'u w tkankach. Dużym zainteresowaniem cieszy się metoda oceny syntezy białka mikrobiologicznego w przedłożkach zwierząt na podstawie ilości związków purynowych: alantoiny, kwasu moczowego, czy hipoksantyny, wydalanych w moczu (5, 7).

Statystycznie istotny wzrost wydalania kwasu orotowego po karmieniu (tab. 5) jest prawdopodobnie odbiciem zwiększonej syntezy związków pirymidynowych *de novo* w tkankach, wynikającej ze wzrostu podaży substratów i energii niezbędnych w tym procesie. Możliwość wchłaniania znaczących ilości kwasu orotowego z przewodu pokarmowego jest mało prawdopodobna, lecz zagadnienie to wymaga dodatkowych badań.

Wyższe stężenie kwasu orotowego w mleku

krów chorych na białaczkę jest trudne do interpretacji. Abramova i wsp. (1) donoszą o zwiększonej zawartości DNA i RNA w mleku krów białaczkowych. Uważa się, że kwas orotowy występujący w mleku pochodzi z syntezy w samym gruczole mlekowym (2). W związku z tym wzrost stężenia kwasu orotowego w mleku jest odzwierciedleniem zwiększonej syntezy związków pirymidynowych w gruczole mlekowym krów chorych na białaczkę. Brak wyraźnego potwierdzenia tego zjawiska w wynikach doświadczenia 1 wynika prawdopodobnie z dużej zmienności w zaawansowaniu białaczki, jak również fizjologicznej zmienności osobniczej w stężeniu kwasu orotowego wykrywanego w mleku.

Wnioski

1. Krowy z białaczkową limfocytozą mają podwyższony poziom pseudourydyny w osoczu krwi oraz moczu, co odzwierciedla szybszy katabolizm tRNA w tkankach tych zwierząt.

2. Karmienie zwiększa poziom związków pirymidynowych i purynowych w osoczu krwi i moczu, przez co utrudnia wykrycie zmian w szybkości metabolizmu kwasów nukleinowych w układzie limfatycznym krów chorych na białaczkę.

3. Uzyskane wyniki wskazują, że zmiany w poziomie badanych związków pirymidynowych i purynowych w osoczu krwi, moczu i mleku krów chorych na białaczkę zależą od stadium zaawansowania tej choroby; dodatnia reakcja serologiczna na antygen wirusa białaczki we wczesnym jej stadium wyprzedza w czasie występowanie wykrywalnych zmian w metabolizmie kwasów nukleinowych w tkankach.

Piśmiennictwo

1. Abramova E. N., Kondratev V. S., Sytinskii J. A.: Vet. Bull. 41, 699, 1974.
2. Ahmed A. A., Porter G. A., McCarthy R. D.: J. Dairy Sci. 61, 39, 1978.
3. Aitken S. C., Lippman M. E.: Cancer Res. 43, 4681, 1983.
4. Aoki T., Weber G.: Science (Wash.) 212, 463, 1981.
5. Deuhurst R. J., Waters C. J., Webster S. J. F.: 5 Intern. Symposium über Protein-stoffwechsel und -ernährung. Berlin, 1987, s. 89.
6. Dieckhues B.: Klin. Mbl. Augenhellk. 1989, 34, 1986.
7. Fujihara T., Chen X. B., Ørskov E. R., Hovell F. D. De B.: 5 Intern. Symposium über Protein-stoffwechsel und -ernährung. Berlin, 1987, s. 73.
8. Heldman D. A., Grever M. R., Trewyn R. W.: Blood 63, 291, 1982.
9. Heldman D. A., Grever M. R., Miser J. S., Trewyn R. W.: J. Natl. Cancer Inst. 71, 269, 1983.
10. Heldman D. A., Grever H. R., Spreicher C. E., Trewyn R. W.: J. Lab. Clin. Med. 101, 783, 1983.
11. Holstege A., Keppler D.: J. Natl. Cancer Inst. 76, 486, 1986.
12. Leube K., Keppler D. O. R.: Biochem. Pharm. 32, 1865, 1983.
13. Nielsen H. R., Killmann S. A.: J. Natl. Cancer Inst. 71, 897, 1983.
14. Rasmussen J. T., Bjork G. R., Dambler L. i wsp.: Recent Results Cancer Res. 84, 331, 1983.
15. Beardon M. A., Weber G.: Cancer Res. 46, 3673, 1986.
16. Reiter S., Löffler W., Gröbner W., Zöllner N.: Adv. exp. Med. Biol. 165A: Purine Metabolism in Man-IV, Plenum Press, New York, 1984, s. 323.
17. Roomi M. W., Ho R. K., Sarma D. S. R., Farber E.: Cancer Res. 45, 564, 1985.
18. Russo T., Colonna A., Esposito F., Salatore F., Cimino F., Italian J. Biochem. 31, 75, 1982.
19. Salvatore F., Colonna A., Constanzo F., Russo T., Esposito F., Cimino F.: Rec. Res. Cancer Res. 184, 360, 1983.
20. Sander G., Topp H., Heller-Schöch G., Wieland J. Schöch G.: Clin. Sci. 71, 367, 1986.
21. Sander G., Hölsemann Jr., Topp H., Heller-Schöch G., Schöch G.: Ann. Nutr. Met. 30, 137, 1986.
22. Shimizu M., Fujimura S.: Cancer Res. 44, 2387, 1984.
23. Simmonds R. J., Harkness R. A.: J. Chromat. 226, 369,

1981.
 24. Sorensen S. H., Brown D. A., Cooper E. H., Kelly K. A., MacLennan J. C. M.: Br. J. Cancer 52, 863, 1985.
 25. Stajner A., Suva J., Musil F.: Experientia 24, 116, 1968.
 26. Tamura S., Miyamoto T., Iwahashi N. i wsp.: Jpn J. Thogac. Dis. 22, 634, 1984.
 27. Tamura S., Amuro Y., Nakano T. i wsp.: Cancer 57, 1571, 1986.
 28. Tatibana M., Kita K., Asai T.: Eur. J. Biochem. 128, 625, 1982.
 Adres autora: doc. dr habil. Tomasz Motyl, ul. Polinezyjska 4 m 41, 02-777 Warszawa

Мотыль Т., Ясинский Ю. — **Пирамидиновые и пуриновые соединения в кровяной плазме, моче и молоке здоровых коров и коров, больных энзоотической лейкемией**

Исследования провели на 56 коровах нч-п породы: здоровых и показывающих положительную серологическую реакцию на антиген вируса лейкемии, в том 4 коров с отчетливым лейкоцитозом ($35,1 \pm 9,3$ тыс. лейкоцитов в mm^3). Сравнили уровень мочевой кислоты, цитозина, псевдоуридина, цитидина, гипоксантина, ксантина и уридина в кровяной плазме, оротовой кислоты и псевдоуридина в моче, а также оротовой кислоты в молоке исследуемых коров. Коровы, больные энзоотической лейкемией, показывали повышенный уровень псевдоуридина в

кровяной плазме и моче, а также большую концентрацию оротовой кислоты в молоке по сравнению со здоровыми коровами. На метаболический эффект лейкемии налагалось влияние факторов кормления, так как кормление увеличивало уровень пириимидиновых и пуриновых соединений в кровяной плазме и моче.

Motyl T., Jasiński J. — **Pyrimidine and purine compounds in the plasma, urine and milk of normal cows and those with enzootic leukosis.**

The studies have been performed on 56 cows, Black and White Lowland breed; some were normal, others reacted positively with leukaemic antigen including four cows with leukocytosis ($35\,100 \pm 9\,300$ per 1 mm^3). The level of uric acid, cytosine, pseudouridine, cytidine, hypoxanthine, xanthine, and uridine in the blood plasma, orothoric and pseudouridine in urine and orothoric acid in milk was determined. Cows with enzootic bovine leukosis showed a higher level of pseudouridine in the blood plasma and urine and orothoric acid milk compared with normal cows. Apart from the changed metabolism caused by the pathogenic process in diseased cows other factors as feeding influenced the level of pyrimidine and purine compounds in the blood and urine.

KAROL JAKUBOWSKI, EWA ROSZKO, HENRYK ZIELIŃSKI

Poziom kortyzolu we krwi świń miniaturowych po wysiłku fizycznym oraz stosowaniu witaminy E i selenu

Zakład Patofizjologii Instytutu Podstawowych Nauk Weterynaryjnych
 Wydziału Weterynaryjnego AR-T, 10-957 Olsztyn-Kortowo II, bl. 105

Wysiłek fizyczny podobnie jak wiele innych stresowych czynników środowiska powoduje w organizmie zwierząt pobudzenie osi podwzgórzowo-przysadkowo-korowonadnerczowej. Uaktywnienie tej drogi prowadzi, jak wiadomo (2, 3, 5, 6, 18, 19), do zwiększenia produkcji przez kory nadnerczy glikokortykoidów spośród których (u zwierząt gospodarskich) przeważa kortyzol. W tym złożonym procesie pewną lecz niecałkowicie poznana rolę odgrywa witamina E (7, 9, 14, 15).

Dvořák i wsp. (10, 11) wykazali, że podwyższenie poziomu 17-hydroksy-kortykoidów (17-OHKS) występujące w stresie wywołanym insulinową hypoglikemią oraz po iniekcji ACTH powoduje zwiększoną koncentrację witaminy E w plazmie krwi. W innych badaniach (8) ten sam autor stwierdził, że masa nadnerczy będących w sytuacjach stresowych i otrzymujących tokoferol była mniej zwiększona, przy czym produkowały one więcej 17-OHKS, niż nadnercza prosiąt wykazujących deficyt tej witaminy. Podana witamina E tłumiała także kataboliczne działanie glikokortykoidów. Fakty te wydają się świadczyć o osłaniającym wpływie tokoferolu na czynność kory nadnerczy i zwiększeniu zdolności do zwalczania przez organizm prosiąt sytuacji stresowych.

Uwzględniając powyższe dane jak również znane współzależności zachodzące pomiędzy tokoferolem i selenem, który jak wiadomo (4, 12, 16) zatrzymuje witaminę E w plazmie krwi,

wchodzi w skład peroksydazy glutationu, przyczynia się do rozkładu nadtlenu, usprawnia wchłanianie tokoferolu z przewodu pokarmowego i w efekcie zmniejsza zapotrzebowanie na witaminę E, w niniejszej pracy postanowiono określić u świń poddanych wysiłkowi fizycznemu wpływ jednorazowego podania witaminy E i selenu na poziom kortyzolu we krwi.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w okresie jesiennym na klinicznie zdrowych i prawidłowo żywionych 20 knuarach miniaturowych rasy Getynga (o przeciętnej masie ciała $23,5\text{ kg} \pm 5\text{ kg}$) pochodzących z hodowli własnej. Świnie przed i w trakcie doświadczenia żywione były dwa razy dziennie mieszaną T zgodnie z normami przewidzianymi dla tej grupy zwierząt.

Całość materiału podzielono na 4 grupy po 5 knuarów. Grupa 1 była kontrolną. W pozostałych grupach, uwzględniając najkrótszy czas jaki winien upłynąć od momentu podania stosowanych preparatów do ich działania w ustroju, świnie otrzymywały jednorazowo iniekcje następujących leków: na 3 dni przed doświadczeniem witaminę E (Polfa) w dawce 19 mg/kg (grupa 2), na 8 dni przed doświadczeniem witaminę E w dawce 19 mg/kg i $3,65\text{ mg/sztukę}$ selenitu sodu (grupa 3) oraz sam selenit sodu w terminie i dawce jak w grupie poprzedniej (grupa 4). Następnie wszystkie zwierzęta, na czezo, poddawana w jednakowych warunkach (pomieszczenie zamknięte) wysiłkowi fizycznemu na bieżni taśmowej przez okres 2 godzin. W ciągu tego czasu świnie odbywały chód równoważny odległości 2,4 kilometra.

Biorąc pod uwagę rytm dobowy, biologiczny czas półtrwania oznaczonego hormonu (17, 21) oraz fakt że po obciążeniu czynnikami środowiskowymi poziom kortyzolu we krwi świń już po 60—90 minutach ulega znacznemu podwyższeniu (13) ustalono