

JANUSZ A. MADEJ, ANDRZEJ GAWĘŁ*, JAN KURYSZKO**, MICHAŁ MAZURKIEWICZ*

Badania nad patomechanizmem lateryzmu jako przyczyny tzw. samorzutnego pęknięcia tętnic u indyków

Katedra Anatomii Patologicznej i Weterynarii Sądowej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

* Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

** Katedra Histologii i Embriologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Koźuchowska 1-3, 51-631 Wrocław

Summary

Studies on the pathomechanism of lathyrism as a result of spontaneous cracking of the arteries in turkeys

The first case of spontaneous cracking of the thoracic and or abdominal arteries due to lathyrism (poisoning with crusted field beans) was described in Poland. The figures illustrate histopathological and structural changes in the wall of the vessels. It was found that the stratification between collagenic fibres and elastic ones as well as the presence of vitreous hyaline were the main cause of arteries cracking. Morphological lesions were accompanied by a decrease of Cu content in the liver of turkeys, which unfavourably influenced the synthesis of lipids, neutral triglycerides and LDL-C fraction linked with cholesterol, i.e. compounds accumulated on the wall of the altered vessels.

Pęknięcie tętnic, w tym tzw. samorzutne, dotyczy uprzednio już uszkodzonych ścian naczyń. W zakresie aorty uszko- sabbiają do pęknięcia zwykle zmiany zwyrodnieniowe i martwica w błonie środkowej. Czynnikiem predysponującym jest z reguły nagły wzrost ciśnienia krwi, np. w stresie. Często całkowite pęknięcie ściany poprzedza wylew krwi do zniszczonej warstwy środkowej z wytworzeniem krwiaka rozwarstwiającego (*haematoma dissecans*). U indyków opisano samorzutne pęknięcie aorty brzusznej i piersiowej prawdopodobnie jako wyraz błędów żywieniowych lub lateryzmu (3).

Lateryzm (*lathyrismus*) występuje endemicznie u ludzi jako zespół Ehlersa i Danlosa (ED) typ IV i VI, w północnej Afryce, Indiach i południowej Europie po spożyciu mąki z grozdku (*Lathyrus L.*) czyli lędźwianu (3). U zwierząt przyczyną choroby jest grozdek *Lathyrus cicera*, *L. pusillus*, *L. clymenura* i *L. odoratus* oraz nasiona wyki i bobiku (3, 10). Właściwości laterogenne zależą od obecności wolnej grupy aminowej w nitylach, ugrupowania uroidowego (NH₂NHCON) w semikarbazydzie i hydrazowego (NH₂NHCOC) w hydrazatach (2, 10).

W lateryzmie dochodzi do zaburzeń wiązań międzycząsteczkowych kolagenu (5). Oksydacyjna dezaminacja reszt lizy- lowych i hydroksylowych ma bowiem podstawowe znaczenie dla trwałego powiązania cząsteczek kolagenu w układzie mikrofibrylli (5). Reakcję tę warunkuje odpowiednia aktywność oksydazy lizylowej. W lateryzmie dochodzi do hamowania aktywności tej oksydazy, katalizującej wytwarzanie allizyny w elastynie i kolagenie. Allizyna powstaje w wyniku oksyda- cyjnej dezaminacji grup aminowych lizyny, przy udziale jonów miedzi (3). Eliminacja tych ostatnich, wskutek chelatujących właściwości związków laterogennych, ma odbicie w patomecha- nizmie lateryzmu (2).

Inhibicja oksydazy lizylowej powoduje wzrost przepusz- czalności i spadek wytrzymałości kolagenu, co manifestuje się powstawaniem kowalencyjnych wiązań krzyżowych (1). Nieodwracalną inhibicję powoduje beta-aminopropionitryl (BAPN), występujący we wszystkich odmianach grozdku, wy- wołujących lateryzm (10). Między innymi w kolagenie wykryto nieznaczną radioaktywność BAPN znakowanego ¹⁴C w grupie cyjanowej (1). Pod wpływem tego inhibitora obserwuje się w ostrym zatruciu grozdkiem u ludzi i zwierząt zmiany osteo- patyczne i neurotoksyczne, manifestujące się zwyrodnieniem *ner- vus vagus* i komórek w ośrodkach ruchowych przednich rogów rdzenia kręgowego, zaburzenia wzrostu chrząstek i kości, ich łamliwość oraz zniekształcenie szkieletu, jak np. *scoliosis* (3, 8). W zatruciu przewlekłym notuje się obecność w tętnicy głównej tętniaków śródściennych (*haematoma intramurale*) i następo- we pęknięcie naczyń oraz skazę krwotoczną (7, 9).

Niniejsze opracowanie przedstawia pierwszy w kraju opis tzw. samorzutnego pęknięcia tętnicy głównej u indyków rzeźnych zdiagnozowanego w jednej z ferm w woj. kaliskim.

Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono w fermie indyków „BIG 6” wylężonych z jaj pochodzących z Wielkiej Brytanii. W indy- czniku o powierzchni użytkowej 1300 m² odchowywano 7680 ptaków. Warunki utrzymania ptaków nie budziły zastrzeżeń. Ptaki żywiono *ad libitum* mieszankami standardowymi, któ- rych wartość pokarmową obrazuje tab. 1.

Weterynaryjny program profilaktyczny obejmował uodpor- nianie indyków w 14 dniu życia przeciwko zakaźnemu zapale- niu nosa i tchawicy (szczepionka AVIFFA-RTI firmy Rhone Merieux) oraz w 3 i 7 tyg. odchowu przeciwko rzekomemu pomorowi drobiu (szczepionka SOTASEC firmy Rhone Merieux). Ponadto ptaki otrzymywały TYLAN wg obowiązują- cego programu w 1, 4, 6 i 9 tyg. odchowu.

W analizowanym stadzie indyków przez 12 tyg. nie noto- wano istotnych problemów zdrowotnych. Padnięcia i wybrako- wania wyniosły łącznie w tym czasie 4,73%. Wzrost padnięć indyków nastąpił w 13-14 tyg. (odpowiednio 0,51 i 0,55%), z nasileniem w 15 (0,66%) i 16 tyg. (0,73%). Wśród padłych ptaków 90% stanowiły indory, przy tym wzrost wskaźnika śmiertelności ptaków miał miejsce w okresie oddziaływania czynnika stresowego, jakim było wylapywanie ze stada indy- czek przeznaczonych do sprzedaży.

Padłe indyki poddano rutynowym badaniom diagnostycz- nym. Ponadto pobrano do oceny histopatologicznej wycinki pękniętych tętnic głównych, tj. aorty piersiowej i aorty brzu- sznej. Wycinki naczyń barwiono rutynowo H + E, czerwieńią oleistą 0-red-0 na lipidy obojętne, PAS-em oraz orceiną na włókna elastyczne. Wykonano również badania ultrastrukturalne błony środkowej odcinka brzusznej aorty wg metody Hultquista i Karlssona (4) w transmisyjnym mikroskopie elek- tronowym Philips BM 301.

We krwi indyków oznaczano poziom lipidów całkowitych, cholesterolu całkowitego, jego frakcji tj. HDL-C i LDL-C oraz trójglicerydów. Oznaczenia wykonano na analizatorze KODAK EKTA-CHEM DT 60 Analyser. Ponadto w wątrobie oznaczano poziom miedzi (hepatokupreine) metodą absorpcji atomowej. Wyniki tych badań odnoszono do grupy kontrolnej, którą stanowiły ptaki zdrowe pochodzące z innego stada. Uzyskane wyniki badań laboratoryjnych opracowano statystycznie przy użyciu testu t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Rutynowym badaniem diagnostycznym ptaków padłych wykuczono choroby tła zakaźnego. W obrazie sekcyjnym obserwowano anemię pokrwotoczną wskutek obecności w jamie opłucnowo-otrzewnowej ptaków znacznej ilości (200–300 cm³) półpłynnej krwi lub jej skrzepów, jako następstwo zupełnego pęknięcia tętnicy aorty piersiowej lub/i brzusznej. Pęknięcia naczyń miały przebieg nierówny, czasem gwiazdkowaty o długości około 0,5–0,8 cm.

W obrazie mikroskopowym obserwowano u badanych ptaków nasilone odkładanie się lipidów obojętnych w warstwie sprężysto-mięśniowej wewnętrznej błony aorty brzusznej i piersiowej. Czasem notowano je także w *tunica media*, gdzie przeplatały luźną tkankę łączną, jak również pomiędzy włóknami mięśniowymi. W niektórych miejscach obserwowano fagocytowanie lipidów przez lipofagi. Taka lipidoza może mieć charakter pierwotny, tj. związana jest z nadmiernym gromadzeniem się tłuszczowców we krwi, uzależniona od nieprawidłowej diety lub wtórny i wynika z zaburzeń we własnej przemianie materii ścian tętnicznych, jak np. zaburzeń enzymatycznych. Pod względem składu chemicznego lipidozy ścian naczyniowych są mieszaniną fosfolipidów, trójglicerydów i cholesterolu oraz jego estrów (1).

U badanych ptaków obserwowano we krwi wzrost koncentracji lipidów całkowitych, trójglicerydów oraz frakcji LDL-C związanej z cholesterolem o około 7–8% (tab. 2). Wykazane różnice były, poza trójglicerydami, wprawdzie statystycznie nieistotne, lecz odzwierciedlały tendencję zaburzeń przemiany lipidowej w tej grupie indyków.

Spotykano także fragmentację i ogniskowy rozpad błon sprężystych ściany aorty z następowym gromadzeniem się erytrocytów, co odpowiada obrazowi tętniaka śródściennego. W tej sytuacji łatwo pękała błona wewnętrzna i środkowa tętnicy. Ogniskowo spotykano rozpoczynające się zwyrodnienie szkliste,

co uzależnione jest od infiltracji ciał pochodzących z osocza i precypitacji śródściennych globulin, lipo- i glikoprotein oraz pochodnych fibrynogenu (1). Błona środkowa była szeroka i zawierała błony sprężyste przeplatające się ze sobą i tworzące błony okienkowate. Między tymi blaszkami była skąpa ilość obrzękłej tkanki łącznej wiotkiej oraz włókna mięśniowe gładkie, pojedyncze lub łączące się w pęczki. W błonie zewnętrznej, utworzonej z tkanki łącznej wiotkiej, obserwowano komórki tłuszczowe oraz włókna sprężyste i pojedyncze, napęczniałe włókna mięśniowe. Ponadto notowano ogniskowe zwyrodnienie szkliste włókien w *tunica media*, nacieki heterofilów i makrofagów w *tunica adventitia*.

W obrazie ultrastrukturalnym w fibroblastach z błony środkowej aorty indyków obserwowano zagęszczenie i kondensację chromatyny przy błonie jądrowej oraz silne jej pofałdowanie (ryc. 1). W niektórych komórkach notowano w cytoplazmie gromadzenie się kropli lipidowych oraz wakuolizację cytoplazmy, zwłaszcza w strefie okołojądrowej (ryc. 1). W obrębie włókien tkanki łącznej stwierdzono rozwarstwienia między włóknami kolagenowymi a kompleksem włókien sprężystych oraz obecność szklisto-ziarnistych złogów, co może stanowić



Ryc. 1. Zagęszczenie i koncentracja chromatyny; silne pofałdowanie błony jądrowej, gromadzenie się lipidów oraz wakuolizacja cytoplazmy okołojądrowej w fibroblacie z błony środkowej aorty. Pow. 8000x

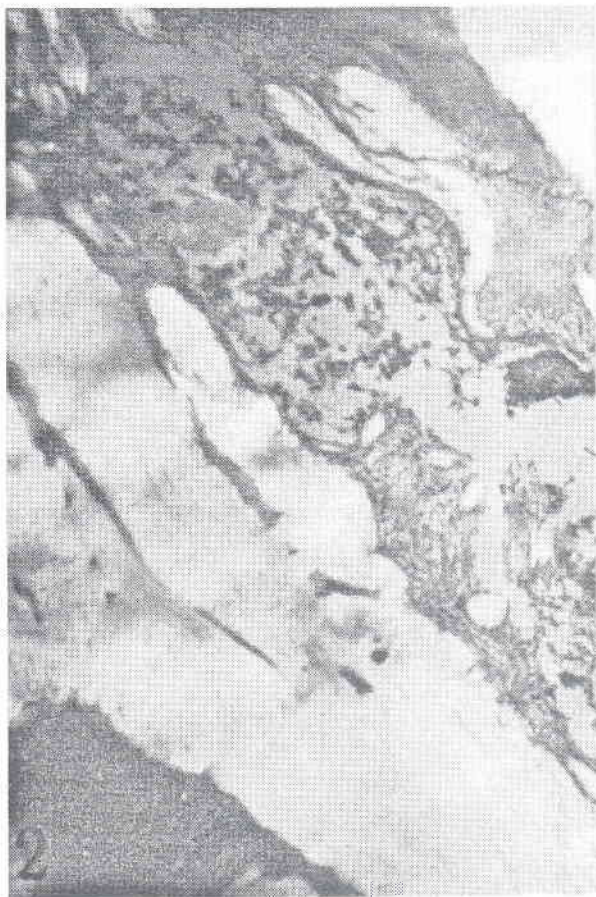
Tab. 1. Wartość pokarmowa mieszanek paszowych stosowanych w żywieniu indyków chorych

Tygodnie odchowu	Energia metaboliczna (Kcal/kg)	Białko ogólne (%)	Włókno surowe (%)	Tłuszcz surowy (%)	Popiół surowy (%)
1-2	2800	29,0	4,2	2,4	9,8
3-6	2850	26,0	4,1	2,5	9,8
7-9	3000	24,0	3,9	5,5	8,3
10-12	3100	22,0	4,0	6,0	8,3
13-18	3150	18,0	3,4	6,5	8,3
19-22	3200	15,0	3,1	6,7	8,3

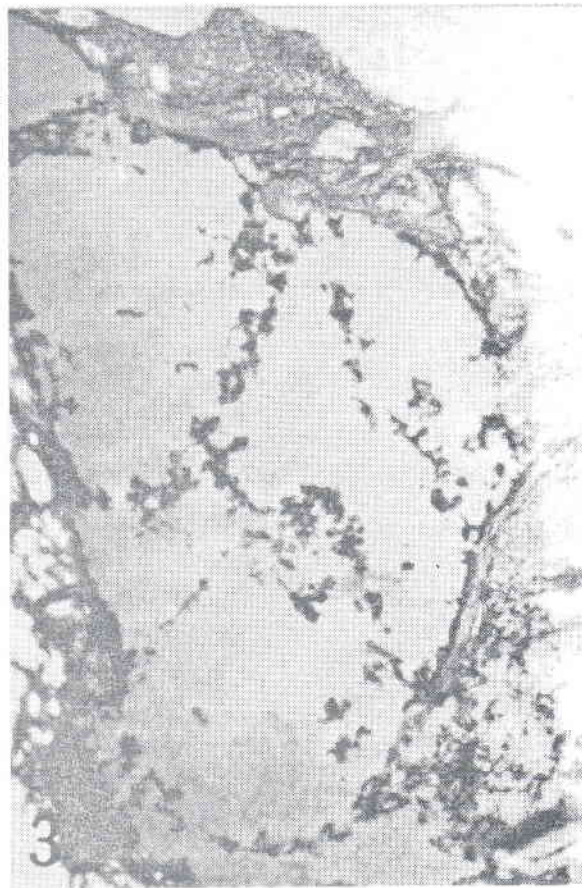
Tab. 2. Zawartość związków lipidowych ($\bar{x} \pm s$) we krwi indyków chorych i zdrowych (n=8)

Grupa indyków	Lipidy całkowite g/l	Cholesterol całkowity mM/l	Cholesterol – HDL mM/l	Cholesterol – LDL mM/l	Trójglicerydy mM/l
Chore	4,35±0,55	3,08±0,52	1,51±0,15	1,26±0,35	0,96±0,25
Zdrowe	3,83±0,51	2,91±0,56	1,56±0,28	0,91±0,36	0,72±0,20

Objaśnienie: a, b – różnice statystycznie istotne przy $p < 0,05$.



Ryc. 2. Rozwarstwienie między włóknami kolagenowymi i sprężystymi w błonie środkowej aorty. Zaleganie w strefie rozwarstwienia szklisto-ziarnistych złożeń. Pow. 14 000x



Ryc. 3. Jak na ryc. 2 – inny fragment aorty. Pow. 14 000x

główną przyczynę pęknięcia ściany naczynia (ryc. 2 i 3). Opisanym zmianom morfologicznym towarzyszył spadek zawartości miedzi (w wątrobie ptaków zdrowych – 5,5 mg/kg tkanki mokrej oraz 20,3 mg/kg suchej masy narządu, zaś u ptaków chorych odpowiednio – 1,9 i 7,4 mg). Wyraźna hipokupremia wpływa niekorzystnie na syntezę włókien kolagenowych, powoduje wzrost ich przepuszczalności i spadek wytrzymałości, co manifestuje się spadkiem elastyczności ściany naczyniowej i wzrostem podatności na uszkodzenie. Nadmierne rozciąganie włókien elastycznych, co miało miejsce u badanych indyków, powoduje w naczyniu większe wiązanie kwasów tłuszczowych, cholesterolu i innych substancji polarnych (1). Degenerację tych włókien wzmagają kwasy tłuszczowe zarówno nasycone, jak i nienasycone. Substancja komórkowa pomiędzy uszkodzonymi włóknami elastycznymi i kolagenowymi ulega zwyrodnieniu, tj. traci wodę, a jej mukopolisacharydy (MPS) ulegają rozpadowi (5). W znaczeniu fizykochemicznym jest to depolimeryzacja substancji, a w znaczeniu biologicznym jej obumieranie.

Warstwa podśródbłonkowa tętnic zawiera komórki należące do tzw. aktywnej mezenchymy multipotencjalnej. Wyróżnia się tu komórki mięśniowe gładkie, makrofagi, fibroblasty, miofibroblasty i fibrocyty (1). Komórki mięśniowe gładkie błony wewnętrznej i błony środkowej tętnic biorą udział w metabolizmie ich ściany. Przetwarzają one wszystkie substancje przechodzące drogą perfuzji przez błonę wewnętrzną do błony środkowej. Dlatego też komórki te mają dużą zdolność fagocytowania i proliferacji. Wyrazem ich aktywności było pojawienie się licznych komórek fagocytujących w ścianie tętnic (makrofagów, lipofagów i heterofilów) u badanych przez nas ptaków.

Upośledzenie funkcji śródbłonka, np. przez oddziaływanie substancji lipidowych, zmienia szybkość i charakter dyfuzji w określonym odcinku ściany naczyniowej. Efektem jest naciek jej przez składniki osocza, tj. lipidy (cholesterol, jego frakcje, trójglicerydy) i wchłonięcie ich przez komórki błony wewnętrznej. W tej sytuacji dochodzi do ogniskowej lipofagii przez makrofagi. Zjawisku temu u badanych indyków towarzyszył spadek poziomu jonów miedzi, co prowadzi do osłabienia aktywności oksydazy monoaminolizylowej z następowym spadkiem trwałości kolagenu na skutek wadliwego usieciowania łańcuchów polipeptydowych (2). Jednocześnie należy dodać, że w tętnicach jest kolagen typu III, a więc zawierający łańcuchy cysteinowe, bogaty w hydroksyprolinę, a ubogi w hydroksylinę i reszty cukrowce (2).

W ocenianej fermie indyków ptaki żywiono mieszankami paszowymi zawierającymi około 2% dodatek śruty bobikowej. Jest wielce prawdopodobne, że ten komponent paszowy był czynnikiem etiologicznym lateryzmu. Wycofanie śruty bobikowej z żywienia indyków oraz zastosowanie w dawkach terapeutycznych witaminy C, Multiwitu extra D oraz Selenowitu extra D (selen + witamina E) doprowadziło po kilku dniach do obniżenia o około 75% wskaźnika śmiertelności indyków.

W fermach indyków cięższych ras w wieku powyżej 12–14 tyg. poza pękaniem aorty obserwuje się również pęknięcie naczyń pod torebką nerek. Podobnie jak łapanie indyków przedysponująco oddziałuje na wystąpienie tego typu stanów patologicznych nadmierne oświetlenie indyczników. Pęknięcie tętnic notowane jest częściej u indyków dotkniętych zespołem upośledzonego wchłaniania (6).

Reasumując, wyniki prezentowanych badań wskazują na pękanie tętnic u indyków jako istotne źródło strat w chowie tego gatunku drobiu. Etiologia tego typu stanów chorobowych wydaje się być złożona. Poza czynnikami antyżywniowymi zawartymi w grochu, bobiku i wyce istotną rolę mogą też odgrywać zaburzenia w przemianie tłuszczowej oraz stany niedoborów witaminowo-mineralnych. Predysponująco też oddziałują różnego typu czynniki stresowe prowadzące do pobudzenia ruchowego ptaków i wzrostu ciśnienia krwi tętnicznej.

Piśmiennictwo

1. Bańkowski E., Galasiński W.: Post. Bioch. 20, 481, 1974.

2. Carnes W. H.: Fedn Proc. 30, 995, 1971.
3. Hennenberg M.: Zatrucia roślinami wyższymi i grzybami. PZWŁ, Warszawa 1984.
4. Hultquist G. T., Karlsson U.: Path. Europ. 97, 101, 1972.
5. Jeleńska M. J.: Post. Bioch. 17, 137, 1971.
6. Koncicki A.: Informacja ustna, 1993.
7. Kucharz E.: Wiad. lek. 39, 609, 1976.
8. McKusick V., Martin G. R.: Ann. intern. Med. 82, 585, 1975.
9. Włoch J., Ratka P.: Przeg. dermat. 65, 477, 1977.
10. Quereshi M. Y.: Phytochemistry 16, 477, 1971.

Adres autora: prof. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskiego 4/5, 50-345 Wrocław

ANDRZEJ HOSZOWSKI, MARIAN TRUSZCZYŃSKI

Ocena przydatności podłoża Rambacha przy izolacji i identyfikacji pałeczek *Salmonella*

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii. Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Usefulness of Rambach's agar for *Salmonella* sp. isolation and their identification

One hundred and nineteen strains of *Salmonella* sp. belonging to 26 serovars were tested on Rambach's agar. Only 65 per cent of the strains under study produced characteristic red colonies. The other strains could not be distinguished from *Enterobacteriaceae* because of the atypical colour of the colonies. No strains belonging to the *S. choleraesuis*, *S. pullorum* or *S. gallinarum* serovars were found, which could develop red pigmented colonies on Rambach's agar. The detection of lactose-positive strains of *Salmonella* sp. was not possible because such bacteria produced blue-violet colonies. A final assessment of the medium needs further examinations including fresh isolates.

Przy wykrywaniu pałeczek *Salmonella* stosuje się wiele różnych podłoży różnicująco-selektywnych. Większość z nich posiada w swym składzie laktozę oraz wskaźnik siarkowodorowy, który daje możliwość wykazania zdolności danego szczepu do tworzenia H₂S. Oprócz tych elementów w składzie podłoża znajdują się pewne substancje selektywnie hamujące wzrost innych niż salmonelle bakterii (zieleń brylantowa, żółć, sole żółci itp.) (4).

Różnicowanie pałeczek *Salmonella* możliwe jest dzięki temu, że są one zdolne do tworzenia siarkowodoru i alkalizacji podłoży (z zasady nie fermentują laktozy) w miejscu wzrostu kolonii, co jest uwidaczniane dzięki odpowiednim wskaźnikom barwnym, wchodzącym w skład podłoża. Inne bakterie, fermentujące laktozę, zakwaszają pożywkę i nie tworzą siarkowodoru w miejscu wzrostu bakterii, w związku z czym barwa kolonii jest inna. Niekiedy jednak przy identyfikowaniu kolonii *Salmonella* napotyka się na znaczne trudności, gdyż około 4% szczepów *Salmonella* nie jest zdolnych do produkcji siarkowodoru, a pewien odsetek szczepów cechuje zdolność do rozkładania laktozy (1, 6). Dodatkowym utrudnieniem jest fakt, że takie drobnoustroje, jak *Proteus* czy *Citrobacter fre-*

undii są również zdolne do tworzenia siarkowodoru i mogą nie rozkładać laktozy; ich kolonie są zatem bardzo podobne do kolonii pałeczki *Salmonella*. Należy również pamiętać o tym, że intensywność produkcji siarkowodoru przez poszczególne szczepy salmoneli może się różnić i dodatkowo zależeć od koncentracji tlenu w kolonii oraz od pH i stężenia żelaza w podłożu (5).

W związku z tym trwają ciągłe poszukiwania stworzenia bardziej doskonałych podłoży, w sensie identyfikacji salmoneli. Jednym z podłoży opracowanych ostatnio z myślą o izolacji salmoneli jest agar z glikolem polipropylenowym (GP), opisanym przez Rambacha (5). Różnicowanie salmoneli na tym podłożu opiera się na ich zdolności do tworzenia kwasu z glikolu polipropylenowego. Według autora ta cecha jest charakterystyczna dla salmoneli w przeciwieństwie do innych *Enterobacteriaceae*. W związku z tym może być wykorzystana dla ich identyfikowania.

Produkcja podłoża została podjęta przez kilka firm. Pojawiło się ono również na rynku polskim. Z tego powodu postanowiono ocenić jego przydatność przy izolacji i identyfikacji salmoneli z materiału zwierzęcego.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 119 szczepach *Salmonella* kolekcji Zakładu Mikrobiologii IWet w Puławach. Należały one do 26 serotypów. Izolowano je w latach 1982-1990 od padłych zwierząt i z pasz. Laktozodatnie (Lac+) szczepy *S. agona* oraz *S. typhimurium* uzyskano z Państwowego Zakładu Higieny. Szczepy przechowywano na podłożu agarowym, w postaci skosów, w próbkach szczelnie zamkniętych, w temperaturze pokojowej, bądź w postaci liofilizatów.

P o d ł o ż a. Do badań użyto agaru Rambacha produkcji firmy Merck. Przygotowywano go zgodnie z zaleceniami producenta. Przed posiewem na agar Rambacha szczepy bakteryjne pasażowano 3-krotnie przez bulion BHI (Brain Heart Infusion Broth Difco) po 24 godziny w temp. 37°C. Następnie za pomocą ezy o Ø3 mm dokonywano posiewów powierzchniowych w taki sposób, ażeby uzyskać na agarze pojedyncze