

MIROSŁAW KLECZKOWSKI*, WŁODZIMIERZ KLUCIŃSKI, EWA SITARSKA, JACEK SIKORA

Stres oksydacyjny i wybrane wskaźniki stanu antyoksydacyjnego zwierząt*

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa
*Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Nowogrodzka 160, 18-400 Łomża

Tlen zajmuje trzecie miejsce pod względem występowania w przyrodzie. Pierwiastek pochodzący z atmosfery, biorący udział w oddychaniu komórkowym, przenoszony jest przy pomocy oksyhemoglobiny wraz z krwią. Jednak w biochemicznych procesach wewnątrzkomórkowych, wykorzystane zostaje około 80% jego dostarczonej ilości (16). Do niedawna uważano, że tlen dzięki wyjątkowym właściwościom sprzyjającym tworzeniu większości skomplikowanych, elektromotorycznych mikromolekuł umiejscowionych w żywej komórce zapewnia organizmom tlenowym bujny rozwój i utrzymanie się przy życiu na Ziemi. Ten pierwiastek chemiczny będąc utleniaczem wchodzącym w reakcje chemiczne ze związkami organicznymi, głównie z cukrami, tłuszczami i częściowo z białkami, pobiera od nich elektrony, natomiast sam ulega redukcji. W środowisku w jakim dokonuje się przebieg reakcji biochemicznych elektrony nie mogą występować w postaci wolnej. Dlatego zawsze odbywa się ich wymiana między formą zredukowaną cząsteczki (przyłączającej elektrony), a formą utlenioną (oddającą elektrony). Wymienione formy tworzą zatem układy nazywane oksydacyjno-redukcyjnymi. Organizmy żywe, które wykorzystują tlen jako ostatecznego biorcę elektronów w procesie oddychania nazywają się tlenowymi lub aerobami. Natomiast organizmy, które zamiast tlenu potrafią wykorzystać inne pierwiastki jak np.: siarkę lub związki organiczne w charakterze ostatecznego biorcy elektronów nazywamy beztlenowymi lub anaerobami. Jednak znacznie korzystniejszy dla organizmu efekt energetyczny towarzyszący przenoszeniu elektronów dokonuje się przy udziale tlenu. Jednym z podstawowych procesów biochemicznych zachodzącym w wewnętrznej błonie mitochondrialnej w wyniku przenoszenia elektronów na tlen z NADH (zredukowany dwunukleotyd nikotynamido-adeninowy) lub z FADH₂ (zredukowany dwunukleotyd flawino-adeninowy) stanowi synteza ATP (adenozyno-5-trójfosforanu) podczas fosforylacji oksydacyjnej. ATP jest związkiem wysokoenergetycznym dostarczającym nie-

zbędnej energii wielu procesom metabolicznym. Jak podkreśla Stryer (12) fosforylacja oksydacyjna jest głównym źródłem ATP dla organizmów tlenowych. Na 30 cząsteczek tego wysokoenergetycznego związku wytworzonego podczas całkowitego utlenienia cząsteczki glukozy do dwutlenku węgla i wody, 26 stanowi wynik fosforylacji oksydacyjnej. Zapotrzebowanie na ATP wpływa na szybkość przebiegu fosforylacji oksydacyjnej. Jednak do momentu pojawienia się zapotrzebowania na wytwarzanie ATP nie dochodzi do przemieszczania się elektronów z energetycznych substratów na cząsteczki tlenu. Najważniejszym elementem decydującym o szybkości tych procesów biochemicznych jest regulacja poziomu ADP (adenozyno-5-dwufosforan), co nazywamy kontrolą oddechową. Podany przykład stanowi jeden z wielu niezwykle złożonych mechanizmów sterowania procesami fosforylacji oksydacyjnej, w której wiodącą rolę pełnią ładunki bioenergetyczne. Jednak pomimo wielu osiągnięć jakich dokonano w ciągu ostatnich lat proces oddychania komórkowego kryje wciąż wiele tajemnic i wymaga dalszych badań zarówno z zakresu biochemii jak i biologii molekularnej oraz biofizyki.

Niezależnie od prac dotyczących istoty utleniania biologicznego w okresie ostatniego dwudziestolecia przeprowadzono wiele interesujących badań nad szkodliwym wpływem tlenu i jego metabolitów na organizm zwierząt (tab. 1) i ludzi. Wykazano, że cząsteczka tlenu pobrana z atmosfery, niezależnie od przemian biochemicznych stanowiących podstawę oddychania, ulega również stopniowej, jednoelektronowej redukcji wieloetapowej (11, 14, 15). Rezultatem tych procesów jest powstawanie aktywnych form lub związków tlenu, zwanych często wolnymi rodnikami (ryc. 1) oraz ich pokrewnych połączeń chemicznych. Wolne rodniki są to cząsteczki lub ich fragmenty zdolne do samodzielnego istnienia, które zawierają jeden lub więcej niesparowanych elektronów. Pojedynczy elektron przyczynia się do nadania rodnikowi właściwości wytwarzania pola magnetycznego. Wymienione cząsteczki mogą być elektrycznie obojętne lub mogą posiadać ładunek dodatni lub ujemny. Wolne rodniki charakteryzują się także zróżnicowanym stopniem aktywno-

* Praca wykonana w ramach grantu KBN nr 501 0208 0027.

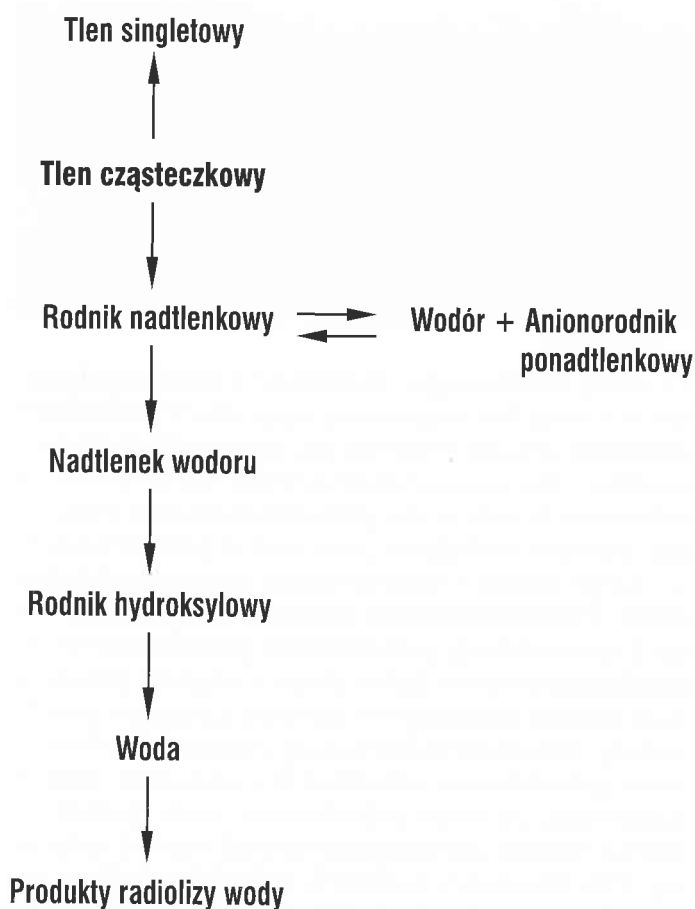
Tab. 1. Wybrane następstwa narażenia zwierząt doświadczalnych na wysokie ciśnienie tlenu (6)

Gatunek	Rodzaj narządu	Charakterystyka zmian chorobowych
Małpa	wątroba	prolifracja hepatocytów
Kot	nerki	uszkodzenie kłębuszków nerkowych
Chomik	jądra	utrata zdolności wytwarzania plemników
Świnka morska	szpik kostny	obniżone wytwarzanie liczby krwinek czerwonych
Szczur	serce	uszkodzenie mikrofibrili, pęknięcie mitochondriów
	wątroba	uszkodzenie mitochondriów

ści chemicznej w stosunku do innych związków organicznych. Reagują wolne rodniki ze znacznie większą liczbą substancji i o wiele szybciej niż tlen cząsteczkowy. Niektóre z wolnych rodników mogą tworzyć wzajemne połączenia. Wzmoczona aktywność niektórych form tlenu trwa ułamki sekundy. Z tego powodu praktyczne ich oznaczanie jest utrudnione (15, 17). Do podstawowych cząsteczek posiadających właściwości wolnorodnikowe zaliczamy przede wszystkim: anionorodnik ponadtlenko-

wy, rodnik nadtlenkowy, nadtlenek wodoru i rodnik hydroksylowy. Tlen cząsteczkowy może również przechodzić w stan podwyższonej aktywności, przybierając formę zwaną tlenem singletowym. Skutki reakcji chemicznych wywołanych przez wolne rodniki są niebezpieczne dla organizmu gdyż mogą prowadzić do utraty aktywności biologicznej lipidów, kwasów nukleinowych, cukrowców, destabilizacji innych cząsteczek aktywnych biologicznie oraz niszczenia pierścieni aromatycznych zasad kwasów nukleinowych (ryc. 2). Mechanizm uszkodzeń DNA przez

reaktywne formy tlenu był przedmiotem wielu prac, jednak molekularne mechanizmy genotoksycznego wpływu wolnych rodników nie są do końca wyjaśnione. Wiadomo natomiast, że najwyraźniejszy efekt w wyniku reakcji z DNA wywołuje rodnik hydroksylowy i tlen singletowy. Udowodniono, że pod wpływem działania wolnych rodników na cząsteczkę DNA może powstać około 100 różnych produktów oksydacji wśród których znajdują się oksydacyjne pochodne zasad azotowych (21). Jednak wśród wielu następstw niekorzystnych jakie niosą ze sobą reaktywne formy tlenu zaobserwowano także wpływ korzystny. Przykład stanowić może leukocyt fagocytujący, będący w stanie spoczynkowym, który zużywa niewielką ilość tlenu. Jednak po wchłonięciu bakterii zużycie tego pierwiastka gwałtownie wzrasta. Spowodowane jest to wzrostem zużycia glukozy w cyklu pentozowym oraz wytworzeniem pewnych ilości nadtlenku wodoru oraz anionorodnika ponadtlenkowego. Powstające związki utleniające służą niszczeniu struktur drobnoustrojów chorobotwórczych. Opisane zjawisko przebiega tak szybko, że nosi nazwę „wybuchu oddechowego” (13). Jednym z najbardziej poznanych procesów wolnorodnikowych jest peroksydacja lipidów, polegająca na utlenianiu nienasyconych kwasów tłuszczowych lub innych lipidów, z których powstają nadtlenki. Reakcja ta jest szczególnie nasiloną w komórkach nabłonkowych, a zwłaszcza w ich błonach z uwagi na zawartość wielu nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz bliskość środowiska bogatego w tlen (15, 16, 17). Reakcje peroksydacyjne mają często charakter lawinowy. Pod wpływem zwiększonego stężenia reaktywnych form tlenu (wolnych rodników) w komórkach oraz przyspieszonych reakcji wolnorodnikowych dochodzi więc do występowania stanu, który określa się nazwą „stres oksydacyjny”. Wielu autorów uważa, że stres oksydacyjny stanowi przyczynę ponad 100 różnych chorób, a w tym wymienionych w tab. 2. Ponadto niektóre leki mogą powodować wytwarzanie reaktywnych form tlenu.



Ryc. 1. Schemat powstawania wolnych rodników pochodzenia tlenowego (19)

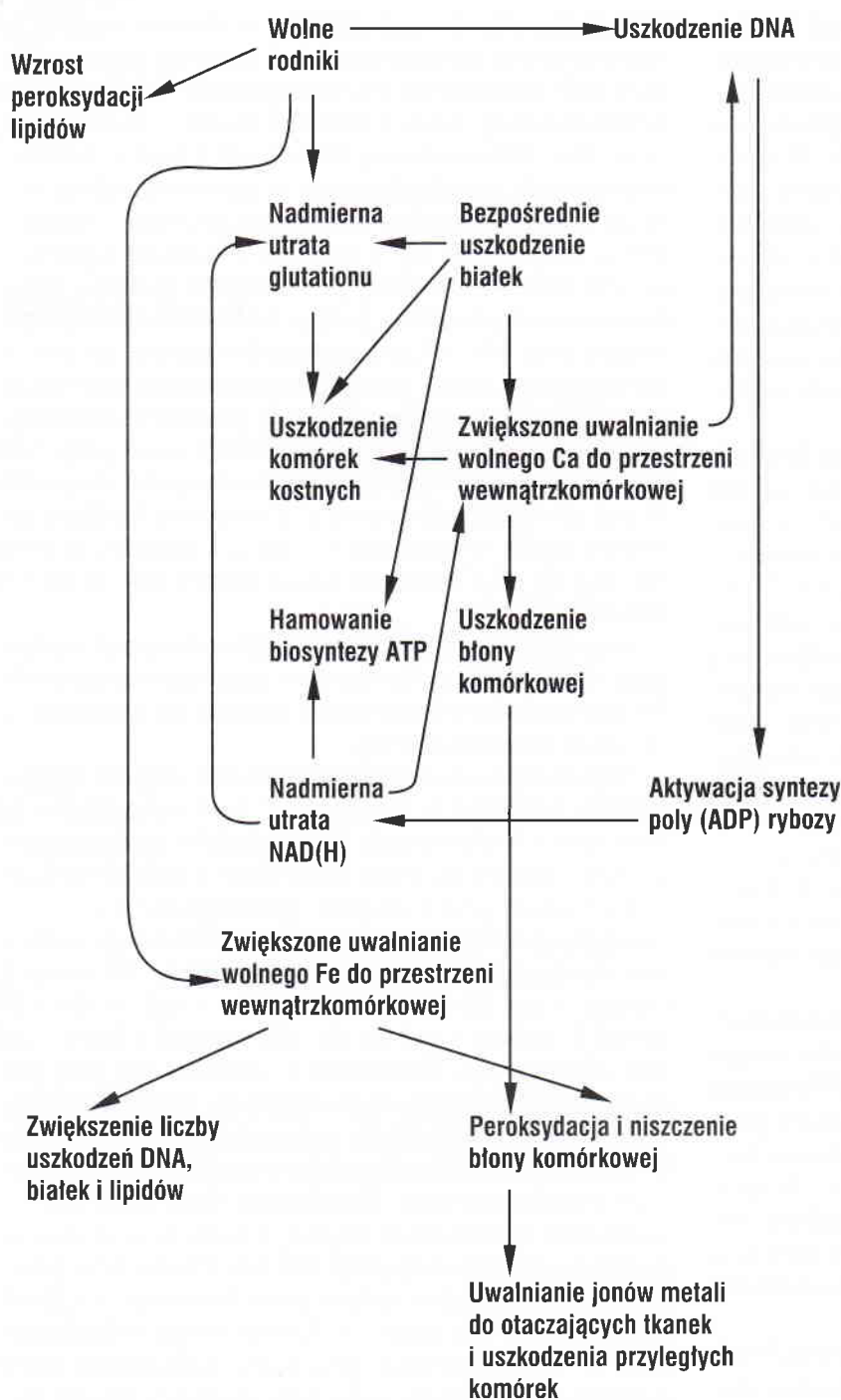
Tab. 2. Wybrane choroby zwierząt i ludzi, które mogą być wywoływane przez stres oksydacyjny (1)

Nazwa układu, narządu lub grupy schorzeń	Nazwa choroby
Układ nerwowy	Zwyrodnienia nerwów zwojowych, choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, choroby motoneuronów, zapalenie opon mózgowych, stwardnienie rozsiane, depresja maniackalna, schizofrenia, syndrom Downa
Układ mięśniowo-kostny	Reumatoidalne zapalenie stawów, dystrofia mięśniowa
Układ wydalniczy	Kłębuszkowe zapalenie nerek
Układ sercowo-naczyniowy	Choroba niedokrwienna serca, niedokrwienie ogólne, kardiomiopatie polekowe, miażdżycy naczyń, zawał mięśnia sercowego, zapalenie naczyń krwionośnych
Skóra	Zapalenie skóry, oparzenie, oparzenie słoneczne
Układ pokarmowy	Owrzodzenia żołądka i dwunastnicy, zapalenie trzustki, rak jelita grubego, zapalenie wątroby
Układ oddechowy	Dysplazja oskrzelowo-płucna, rozedma płuc, zwłóknienie torbielowate
Układ rozrodczy	Zaburzenia w wytwarzaniu plemników, niepłodność
Okno	Jaskra
Krwinki czerwone	Talasemia, niestabilność hemoglobiny, wpływ wiciocyny i konwicyny zawartej w nasionach bobu
Choroby powstające z powodu autoimmunoagresji	Toczeń rumieniowaty
Zaburzenia metaboliczne	Niedobór Se i witaminy E, cukrzyca, nadczynność tarczycy, choroby wywołane niedoborem Cu i Zn, uszkodzenia żołądka i jelit solami Fe zawierającymi jon żelazawy, alkaptonuria
Choroby uogólnione	Choroba popromienna, nowotwory, przyspieszone starzenie się, wstrząs krwotoczny, przewlekłe stany zapalne różnych narządów, wstrząs septyczny, osłabienie odporności
Zatrucia	Zatrucia endotoksynami bakteryjnymi, zatrucie metalami ciężkimi, zatrucie glinem, zatrucie chlorowcoalkanami, zatrucie jonami żelazawymi

Przykład stanowić może izoniazyd, izoproniazyd, fenolohydrazyna, acetylofenylohydrazyna, sulfasalazyne, kwas 5-aminosalicylowy, halotan, gentamycyna, cefalorydyna, chloramfenikol, penicyliny w obecności jonów Fe i Cu, antybiotyki polimyksynowe, bacytracyna, amfoterycyna, kandydycyna, nystatyna i natamycyna (1).

Reaktywne formy tlenu stanowią niewątpliwie zagrożenie dla zdrowia i życia organizmów. Jednak na szczęście w procesie długotrwałej ewolucji wytworzyły się mechanizmy ochronne, które w warunkach fizjologicznych skutecznie zapobiegają tworzeniu się reakcji wolnorodnikowych, przerywają reakcję oraz wymiatają z komórek reaktywne metabolity tlenu. Do procesów oraz substancji aktywnych chroniących komórki przed ujemnym wpływem wolnych rodników należy zaliczyć: związki wygaszające wzbudzone cząsteczki, mechanizmy nieenzymatyczne, mechanizmy enzymatyczne i biał-

ka szoku termicznego. Aktywność wzbudzonych cząsteczek może być wygaszana przy pomocy naturalnych związków organicznych jak np.: przy pomocy karotenoidów. Do nieenzymatycznych mechanizmów ochronnych zalicza się: przeciwutleniacze, zmiatacze wolnych rodników, jony metali przejściowych, sekwestr metali i uczestniczące w nim metalotioneiny. Przeciwutleniacze stanowią związki chemiczne, które redukują anionorodnik ponadtlenkowy do nadtlenu wodoru, który ulega następnie przemianom między innymi przy pomocy katalazy i peroksydazy. Do przeciwutleniaczy zalicza się również kwas askorbinowy, witaminę E i glutation. Należy nadmienić, że kwas askorbinowy może pełnić zarówno funkcję antyoksydacyjną jak i prooksydacyjną. Do zmiataczy wolnych rodników zalicza się związki takie jak: adrenalina, bilirubina, biliwerdyna oraz kwas moczowy, tiomocznik, mrówczan sodowy, etanol, butanol, glukoza, mannitol i Tris oraz



Ryc. 2. Schemat wzajemnego oddziaływania mechanizmów uszkadzających komórki przez wolne rodniki

metalotioneiny. Jony takich pierwiastków jak Cu, Zn, Mn i Fe wchodzą do centrów katalitycznych różnych enzymów, łączą się z białkami, pozostają w połączeniu z niskocząsteczkowymi związkami chelatującymi lub też pozostają w formie wolnej. Ich funkcja związana jest z zabezpieczeniem komórek przed toksycznością tlenu. Podobne zadanie pełni tzw. sekwestr metali. Polega on na przechowywaniu nie wykorzystanych przez organizm jonów metali w formie niedostępnej dla reakcji Fentona. Reakcja Fentona polega na utlenianiu kompleksu miedziawego przez nadtlenek wodoru, w wyniku

której powstaje rodnik hydroksylowy. Uważa się także, że białka zwane metalotioneinami są silnymi zmiataczami rodników hydroksylowych i biorą udział w sekwestracji metali (3, 5).

Odpowiedź organizmu na stres oksydacyjny wyraża się określonym stanem antyoksydacyjnym, który można przedstawić w formie aktywności całkowitej lub też charakteryzując poszczególne jego ogniwa składające się z mechanizmów enzymatycznych i nieenzymatycznych. Całkowitą aktywność antyoksydacyjną można określić przy pomocy testu TAS – Total Antioxidant Status firmy Randox. W metodzie wykorzystane zostały właściwości chemiczne ABTS (sulfonian 2,2'-azyno-dwu-(3-etylobenzenotiazolowy), który inkubowany z peroksydazą i nadtlenkiem wodoru przyczynia się do powstania kationorodnika ABTS. Podczas wymienionego procesu chemicznego powstaje dość stabilny niebieskozielony barwnik, którego nasilenie mierzy się przy 660 nm w temperaturze 37°C. Dlatego w celu dokonywania odczytu należy wykorzystać spektrofotometr wraz z łaźnią oraz z możliwością automatycznego pomiaru absorbancji w czasie. Każde laboratorium powinno określić własne granice wartości referencyjnych występujące u zwierząt zdrowych. Do badań należy użyć świeżo odwirowaną surowicę krwi lub heparynizowane osocze. Krew do badań, surowicę lub osocze można przetrzymywać przez 18 godzin w temperaturze od +2 do +8°C. Wyniki analiz odczytuje się z krzywej standardowej wyrażonej w mmol/l. Z badań własnych wynika, że całkowita aktywność antyoksydacyjna u krów pochodzących z rejonów niedoborowych w mikroelementy wynosi od 17,8 do 18,3 mmol/l i jest niższa niż u bydła z terenów o prawidłowym stężeniu składników mineral-

nych w glebie i paszy (24,2 mmol/l) (9). Natomiast całkowita aktywność antyoksydacyjna u chorych psów jest bardzo niska oraz zróżnicowana i wynosi od 0,003 do 0,081 mmol/l (10).

Wśród wielu wskaźników antyoksydacyjnej aktywności enzymatycznej na szczególną uwagę zasługuje dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) i peroksydaza glutationowa (GPX). SOD jest enzymem przyspieszającym dysmutację toksycznych anionorodników ponadtlenkowych, wytwarzanych w oksydacyjnych procesach energetycznych przebiegających w komórce. W czasie reakcji dysmutacji 2 anionorod-

niki ponadtlenkowe zostają przekształcone w nadtlenek wodoru i tlen cząsteczkowy. W metodzie obowiązującej w teście Ransod firmy Randox wykorzystuje się ksantynę i oksydazę ksantynową do wytwarzania rodników ponadtlenkowych. Wytworzone wolne rodniki w utworzonym układzie chemicznym wchodzi w reakcję z solami p-jodonitrotetrazolu (INT) wytwarzając czerwony barwnik formazanowy. Obecna w erytrocytach SOD konkuruje z INT o wolne rodniki, co wyrażone zostaje obniżeniem intensywności zabarwienia mieszaniny reakcyjnej. Aktywność SOD jest więc odwrotnie proporcjonalna do natężenia barwy.

Do badań należy używać świeżej, pełnej krwi po uprzednim dodaniu heparyny lub EDTA celem uniemożliwienia krzepnięcia. Intensywność czerwonego zabarwienia odczytuje się w spektrofotometrze przy długości fali 505 nm i temperaturze 37°C. Absorbancję początkową odczytuje się po upływie 30 sekund od chwili dodania oksydazy ksantynowej zaś końcową po 3 minutach od pierwszego odczytu. Ważny jest dokładny czas odczytu oraz stałe utrzymanie ustalonej temperatury. Wynik odczytuje się z wykresu procentowego hamowania reakcji wykonanej w oparciu o standard, któremu odpowiada właściwa aktywność SOD, wyrażona w jednostkach – J/ml pełnej krwi lub znacznie dokładniej na gram hemoglobiny. Aktywność SOD u krów pochodzących z północno-wschodniej Polski wynosi od 42,9 do 74,3 J/g hemoglobiny (8).

Metodyka oznaczania aktywności peroksydazy glutationowej przy pomocy testu diagnostycznego Ransel firmy Randox oparta jest na katalizowaniu utleniania glutationu przez nadtlenek wodoru przy pomocy peroksydazy glutationowej. Utleniona forma glutationu jest ponownie przemieniana bezpośrednio do formy zredukowanej przy jednoczesnym, towarzyszącym utlenianiu NADPH. Proces ten przebiega w obecności reduktazy glutationowej i NADPH.

W badaniach należy wykorzystywać świeżą krew z dodatkiem heparyny. Pomiarów absorbancji dokonuje się przy długości fali 340 nm w temperaturze 37°C. Absorbancję początkową odczytuje się po upływie 1 minuty od dodania ostatniego odczynnika chemicznego a następnie po upływie 1 i 2 minut. Aktywność peroksydazy glutationowej wyrażana jest w jednostkach – J/gram hemoglobiny. Każde laboratorium przy pomocy wymienionej metody powinno opracować własne wartości referencyjne (3). Aktywność enzymu u krów na terenie północno-wschodniej Polski wynosi od 0,99 do 1,57 J/g hemoglobiny (8).

Stan antyoksydacyjny zależy także od ceruloplazminy, która posiada zdolność hamowania autooksydacji lipidów i usuwa z komórek rodniki anionu ponadtlenkowego. Ceruloplazmina jest również białkiem ostrej fazy, którego poziom wzrasta podczas

zakażenia, stanów zapalnych i w okresie ciąży. Ceruloplazminę można oznaczać metodą immunofuzji lub aktywności enzymatycznej. Według Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej oraz Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej stężenie ceruloplazminy w surowicy należy wyrażać w mmol/l, biorąc pod uwagę jej masę cząsteczkową, znajdującą się w surowicy ludzkiej wynoszącą 150 000. Najbardziej powszechna metoda oznaczania ceruloplazminy polega na katalizowaniu utleniania, przy pH 5,4, p-fenylendodwuminy do związku barwnego, który posiada największą absorbancję przy 525 nm, w przypadku gdy pomiaru dokonuje się wobec buforowanego substratu oraz przy 530 nm, gdy pomiar wykonuje się w stosunku do próby ślepej zawierającej surowicę. Zawartość białka w surowicy bydła wynosi od 1,7 do 2,4 mmol/l, u świń od 10,6 do 15,5 mmol/l i u kur niosek od 1,0 do 1,9 mmol/l (4).

Stan antyoksydacyjny organizmu zwierząt warunkuje duża liczba elementów nieenzymatycznych. Wśród nich do ważniejszych zalicza się witaminę C i E oraz metalotioneiny.

Najlepszym sposobem określania stopnia zaopatrzenia zwierząt w witaminę C jest oznaczanie jej poziomu w leukocytach. Ze względów praktycznych jednak najczęściej kwas askorbowy i dehydroaskorbowy badany jest w osoczu. Według Grysa (5) referencyjny poziom witaminy C w surowicy przedstawia się następująco: krowy – od 40 do 70 mmol/l, cielęta – od 52-82 mmol/l, owce – od 56 do 120 mmol/l, świny – od 58 do 102 mmol/l i kury – od 280-320 mmol/l. Witaminę C oznacza się przy pomocy metod chromatograficznych. Jednak najczęściej stosuje się metodę polegającą na sprzęganiu kwasu dehydroaskorbowego w reakcji z 2,4-dwunitrofenylohydrazyną. Powstający hydrazon należy rozpuścić w stężonym H_2SO_4 i następnie dokonać pomiaru absorbancji przy 520 nm. Próby krwi przeznaczone do badań należy przechowywać w chłodni ponieważ witamina C łatwo ulega utlenieniu. Celem zahamowania procesów utleniania krew powinna być odbiałczona przy pomocy kwasu metafosforowego lub trójchlorooctowego (5).

Przy wysokim stężeniu nadtlenków, zwłaszcza w błonach komórkowych, tokoferole posiadają na ogół słabszą aktywność antyoksydacyjną niż witamina C. W wyniku peroksydacji dochodzi do oderwania się atomu wodoru z grupy hydroksylowej, co powoduje przejście w rodnik tokoferylowy. Na tym etapie witamina E może być ponownie odzyskana przy pomocy kwasu askorbinowego lub może ulec dalszym przemianom do chinonu. Tokoferole pełnią istotną rolę w ochronie grup SH enzymów łańcucha oddechowego (17, 18). Wśród wielu znanych jedną z częściej stosowanych metod oznaczania witaminy E jest wysokociśnieniowa chromatografia cieczowa z detekcją spektrofotometryczną przy 292 nm.

W ostatnich latach wielu autorów interesuje się metalotioneinami jako zmiataczami rodników hydroksylowych. Są to białka o niskiej masie cząsteczkowej i dużej zawartości S, które wiążą Cu, Zn, Cd, Hg, Fe, Au i Pt. Biosynteza białek może być w organizmie również indukowana przez Cu, Zn, Cd, Hg, Bi oraz Ag (2). Zawartość metalotionein we krwi można określać metodą radioizotopową przy użyciu Hg²⁰³ (22), zaś w tkankach zarówno metodą radioizotopową jak i kadmową (20). Zawartość metalotionein w poszczególnych narządach wewnętrznych i tkankach była jest zróżnicowana i wynosi w korze nerek od 0,35 do 0,52 mg/g tkanki, w wątrobie od 0,38 do 0,72 mg/g, w nabłonku żwacza od 0,10 do 0,19 mg/g, w nabłonku czepca od 0,12 do 0,16 mg/g, w nabłonku ksiąg od 0,09 do 0,25 mg/g, w nabłonku trawieńca od 0,15 do 0,19 mg/g, w nabłonku dwunastnicy od 0,33 do 0,48 mg/g i w nabłonku okrężnicy od 0,15 do 0,20 mg/g (7).

Z wybranych wskaźników aktywności antyoksydacyjnej organizmu wynika, że istnieją duże możliwości w prowadzeniu badań nad opracowywaniem monitoringów stad zwierząt gospodarskich, ściśle związanych z określonym ekosystemem. Może to mieć szczególne znaczenie praktyczne w przypadku występowania zaburzeń produkcyjnych, osłabienia rozrodczości oraz przy występowaniu licznych zaburzeń w stanie zdrowia przebiegających w formie podklinicznej o trudnej do ustalenia etiologii. Dotychczas obserwowane następstwa produkcyjno-zdrowotne stanów podklinicznych, zaburzeń metabolicznych u zwierząt gospodarskich, będące wynikiem rozchwiania homeostazy ustrojowej przynoszą niejednokrotnie większe straty niż choroby zakaźne. Dlatego powinny być objęte programami monitoringowymi oraz skuteczną profilaktyką, finansowaną z budżetu Państwa. Zagadnieniem

ochrony zdrowia i produktywności zwierząt gospodarskich powinny zająć się weterynaryjne oddziały ochrony produkcji zwierzęcej podległe dyrektorom wojewódzkich zakładów weterynarii. Zaplecze naukowo-badawcze stanowić mógłby Państwowy Instytut Weterynaryjny, Katedry Chorób Wewnętrznych Wydziałów Weterynaryjnych oraz Zakłady Higieny Weterynaryjnej.

Piśmiennictwo

1. Bartosz G.: Druga twarz tlenu. PWN, Warszawa, 1995, s. 221.
2. Bremner I., Beattie J. H.: Ann. Rev. Nutr. 10, 63, 1990.
3. Gaumouri L., Artur Y., Herberth B., Jeardel C., Cuny G., Siest G.: Clin. Chem. 37, 1932, 1991.
4. Gryś S.: Mat. Nauk. XV Konf. Bioch. ZHW. I. Wet., Łomża, 1988, s. 160.
5. Gryś S.: Mat. Nauk. XV Konf. Bioch. ZHW. I. Wet., Łomża, 1988, s. 166.
6. Hallywell B.: Copper proteins and copper enzymes. CRC Press, Boca Raton t. 2, 1984, s. 63.
7. Kleczkowski M.: Acta Vet. Hung. 36, 101, 1988.
8. Kleczkowski M., Kluciński W., Strzaliński M., Sikora J., Sitariska E., Dziekan P., Ładysz R., Wojewoda L.: Mat. X Kongresu Wrocław, 1996, s. 166.
9. Kleczkowski M., Kluciński W., Sikora J., Dziekan P., Ładysz R.: Mat. VI Zjazdu Nauk. Pol. Tow. Toksykol., Nałęczów, 1996, s. 36.
10. Kleczkowski M., Kluciński W., Sitariska E., Winnicka A., Sikora J., Dziekan P., Ładysz R., Czubek A.: Mat. Nauk. XXI Konf. Bioch. ZHW. J. Wet., Warszawa, 1997, s. 48.
11. Kleczkowski M., Kluciński W., Strzaliński M., Sikora J., Dziekan P., Skowroński M., Wojewoda L.: Mat. IV Reg. Forum Ekologicznego ŁTN, Łomża, 1996, s. 315.
12. Stryer L.: Biochemia. PWN, Warszawa, 1997, s. 564.
13. Kwiatkowski J. M.: Post. Bioch. 34, 311, 1988.
14. Liczmański A. E.: Post. Bioch. 34, (I), 273, 1988.
15. Liczmański A. E.: Post. Bioch. 34 (II), 293, 1988.
16. Malinowska A.: Zarys biochemii zwierząt. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 1986, s. 139.
17. Malinowska A.: Nowości Wet. 22, 3, 1992.
18. McCay P. B.: Ann. Rev. Nutr., 5, 323, 1985.
19. Sikora E.: Post Bioch. 35, 563, 1988.
20. Włostowski T.: Comp. Biochem. Physiol. 101C, 155, 1992.
21. Zastawny T. H.: Post. Bioch. 42, 1996.
22. Żelazowski A. J., Piotrowski J. K.: Acta bioch. pol. 24, 97, 1977.

Adres autora: doc. dr hab. Mirosław Kleczkowski – prof. nadzw. SGGW, ul. J. Korczaka 5, 18-402 Łomża

NOSQUET E., MORVAN H., AITKEN I., MORGAN J. H.: Badanie porównawcze *in vitro* aktywności doksycyliny i oksytetracykliny w stosunku do patogenów układu oddechowego prosiąt. (Comparative *in vitro* activity of doxycycline and oxytetracycline against porcine respiratory pathogens). Vet. Rec. 141, 37-40, 1997(2)

Wartość MIC (µg/ml) doksycyliny dla 55 szczepów *Pasteurella multocida* wynosiła 0,13-2,0, dla 59 szczepów *Actinobacillus pleuropneumoniae* 0,25-2,0 oraz dla 26 szczepów *Mycoplasma hyopneumoniae* 0,016-2,0. Dla oksytetracykliny wartość MIC wynosiła odpowiednio 0,5-64,0; 0,5-32,0 i 0,016-4,0. *P. multocida* i *A. pleuropneumoniae* wyosobniono od świń we Francji zaś *M. hyopneumoniae* na terenie Wielkiej Brytanii. Wszystkie badane szczepy były wrażliwe na doksycylinę podczas gdy 22% szczepów *A. pleuropneumoniae* i 15% szczepów *P. multocida* była oporna na oksytetracyklinę. Stężenie oksytetracykliny hamujące wzrost 90% szczepów wynosiło dla *P. multocida* 1,0 µg/ml, dla *A. pleuropneumoniae* 2,0 µg/ml. Stężenie hamujące wzrost 90% szczepów *M. hyopneumoniae* wynosiło dla doksycyliny 1,0 µg/ml, dla oksytetracykliny 2,0 (g/ml.)

G.

SAIF Y. M., MOHAN R., WARD L., SENNE D. A., PANIGRAPHY B., DEARTH R. N.: Naturalne i doświadczalne zakażenie indyków paramyksowirusem-7 ptaków. (Natural and experimental infection of turkeys with avian paramyxovirus-7). Avian Diseases 41, 326-329, 1997(2)

Paramyksowirus-7 wyosobniono z naturalnego zakażenia układu oddechowego indyków. Choroba rozprzestrzeniła się szybko w stadzie liczącym 1650 sztuk indyków w wieku 15 tygodni. W okresie tygodnia padało codziennie około 17 indycząt. U padłych sztuk stwierdzano powiększenie wątroby i śledziony, konsolidację 50-70% tkanki płucnej, zapalenie osierdzia, *perihemipatitę*, zapalenie worków powietrznych i nagromadzenie dużych ilości śluzu w tchawicy. Wyosobnionym szczepem zakażono zarodki kurze SPF oraz indyczęta w wieku 5, 20 i 33 dni. Część indycząt eksponowano na zakażenie kontaktowe. Dawka zakaźna przy zakażeniu donosowym wynosiła 1×10⁹ EID₅₀ lub 5×10⁹ EID₅₀. U indycząt zarówno po zakażeniu donosowym jak i na drodze kontaktowej występowało zapalenie worków powietrznych. Miano wirusa izolowanego od eksperymentalnie zakażonych ptaków w odczynie HI określone po 11, 15 i 21 dniach po zakażeniu wynosiło 1:20 - 1:160.

G.