

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XV, 8

SECTIO DD

1960

Z Katedry Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr Wiesław Holobut

Tadeusz STUDZIŃSKI, Marian WIŚLIŃSKI

Występowanie różnych typów hemoglobiny u niektórych ras owiec *

Содержание различных типов гемоглобина у некоторых пород овец

Occurrence of Various Types of Haemoglobin in Some Breeds of Sheep

Po wykryciu przez Paulinga i współprac. nienormalnej hemoglobiny u ludzi chorych na anemię sierpowatą (14), badania nad różnymi typami zarówno u ludzi, jak u zwierząt przybrały szerszy i wnikliwszy charakter. Stosując wszechstronne metody badań, wykryto nie tylko różne typy hemoglobiny, ale poznano także ich różne własności fizykochemiczne. Dowiedziono, że różne własności fizykochemiczne są warunkowane odmiennym składem (7, 10) oraz różną sekwencją aminokwasów w cząsteczce hemoglobiny (11).

Pierwsze badania nad hemoglobina u owiec przeprowadzili Harris i Warren (6), Cabannes i Serain (1) oraz Evans i współprac. (5). Harris i Warren (6) wykryli przy pomocy elektroforezy bibułowej dwa typy hemoglobiny u owiec. Typ hemoglobiny poruszający się szybciej do anody określili jako Hb A, wolniej zaś jako Hb B. Według Evansa i współprac. (2—5) typy te mogą występować w formie homozygotycznej AA i BB jak również heterozygotycznej AB. Van der Helm i współprac. (8) badając owce holenderskie rasy Texel, wykryli także, przy zastosowaniu elektroforezy bibułowej istnienie dwu typów poruszających się różnie szybko w polu elektrycznym. Hemoglobinę wolniej migrującą określili jako Hb I, a szybciej migrującą jako Hb II. Poddając hemoglobinę tych owiec badaniom chromatograficznym, denaturacji alkalicznej oraz określając zdolność rozpuszczania się w buforach fosforanowych wykryli dalsze różne własności poszczególnych hemoglobin (8). Wykrycie różnic w po-

* Praca częściowo subwencjonowana przez Wydz. V PAN.

winowactwie do tlenu dwu typów hemoglobiny u owiec (9, 10, 13) oraz istnienie wahań niektórych wskaźników hematologicznych (całkowita zawartość hemoglobiny, liczba krwinek czerwonych, wartość hematokrytowa) uwarunkowanych rodzajem hemoglobiny u owiec (10, 15) stwarza konieczność poznania częstości występowania tych hemoglobin celem możliwości wzięcia pod uwagę wpływu typu czerwonego barwika na wielkość pewnych norm hematologicznych.

MATERIAŁ I METODA

Przebadano hemoglobinę następujących ras owiec: merynos, karakuł, cakiel, wrzosówka, świniarka i cygaj. Krew do badań pobierano z żyły jarzmowej do probówek z 3,8% roztworem wodnym cytrynianu sodowego. Przez wirowanie oddzielano krwinki od osocza, a następnie przemywano je 0,9% NaCl. Po 3-krotnym powtórzeniu przemywania i wirowania, krwinki czerwone hemolizowano dodając do nich wodę destylowaną w ilości równej objętości krwinek, a następnie 0,4 objętości toluenu. Po usunięciu toluenu oraz po przesączeniu otrzymywano wodny roztwór hemoglobiny gotowy do badań elektroforetycznych i do denaturacji alkalicznej.

Elektroforezę hemoglobiny przeprowadzono przy użyciu aparatów krajowej produkcji o poziomym zawieszeniu pasków. Stosowano bufor weronalowo-medialnowy o sile jonowej 0,06 i pH 8,6. Używając bibuły Whatman nr 4 oraz napięcia 300 V otrzymywano rozdziały hemoglobiny po 6 godz. Elektroforegramy barwiono 0,1% alkoholowym roztworem błękitu bromo-fenolowego. Oporność hemoglobiny na działanie 0,1 N NaOH określano według metody Jonxisa i Vissiera (12) posługując się fotometrem Pulfricha z fotokomórką Elpho 2.

WYNIKI BADAŃ

Stwierdzono istnienie dwu typów dojrzałej hemoglobiny, z których jedna wykazuje wolniejszą migrację elektroforetyczną w buforze o pH 8,6, a druga szybszą. Zależnie od występowania rodzaju hemoglobiny owce można podzielić na trzy typy: owce posiadające Hb A (szybciej migrująca), owce z Hb B (wolniej migrująca) oraz owce posiadające obydwa wyżej wymienione rodzaje (Hb A+B).

Tabela 1

R a s a	Ilość badanych owiec		Hb A		Hb A + B		Hb B	
	szt.	%	szt.	%	szt.	%	szt.	%
Merynos	72	100	3	4	30	41	39	55
Karakuł	50	100	—	—	14	28	36	72
Cakiel	53	100	1	2	20	38	32	60
Cygaj	50	100	2	4	14	28	34	68
Wrzosówka	42	100	7	17	24	57	11	26
Świniarka	40	100	—	—	—	—	40	100

Zbadano hemoglobinę 307 owiec następujących ras: merynos polski, cakiel, wrzosówka, świniarka i cygaj.

Dokładne dane liczbowe ilości przebadanych sztuk poszczególnych ras owiec zawiera tab. 1.

Badając oporność hemoglobiny na denaturację alkaliczną w 0,1 N NaOH w ciągu 20 min. stwierdzono znacznie wyższą oporność Hb A w porównaniu do Hb B. Ilość nie zdenaturowanej hemoglobiny po 20 min. denaturacji wynosiła 45% w przypadku Hb A owiec rasy merynos polski, cakiel, cygaj i wrzosówka, a 28% w przypadku Hb B wszystkich badanych ras. Hemoglobina owiec heterozygotycznych, stanowiąca mieszaninę Hb A i Hb B, wykazywała pośrednią oporność na denaturację alkaliczną. Ilość nie zdenaturowanej hemoglobiny po 20 min. w takich wypadkach wynosiła od 37 do 39%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Szerokie różnice w częstości występowania trzech typów hemoglobiny zostały wykryte u poszczególnych ras owiec. Wśród merynosów 55% owiec posiadało Hb B, 41% Hb A+B oraz 4% Hb A. Wśród karakułów było 72% owiec z Hb B oraz 28% z Hb A+B. Owiec z Hb A nie wykryto w tej rasie. Z 53 owiec rasy cakiel wykryto 60% z Hb B, 38% z Hb A+B oraz 2% z Hb A. Badając owce rasy wrzosówka stwierdzono istnienie w 17% Hb A, w 57% Hb A+B oraz 26% Hb B. U świniarek stwierdzono występowanie jedynie Hb B, zaś u rasy cygaj w 68% Hb B, 28% Hb A+B oraz w 4% Hb A. Najbardziej różniącymi się rasami pod względem częstości występowania hemoglobiny są owce rasy świniarka i karakuł oraz owce rasy wrzosówka. Występowanie tylko Hb B wobec braku Hb A+B oraz Hb A u przebadanych owiec rasy świniarka daje podstawy do twierdzenia, że rasa ta jest ściśle związana z wytwarzaniem Hb B. Podobne stosunki występują u owiec rasy karakuł, u których nie stwierdzono istnienia Hb A, oraz tylko 14% Hb A+B. Przeważająca część owiec tej rasy (72%) posiada Hb B. U pozostałych ras owiec zaznacza się wyraźna przewaga na korzyść częstszego występowania Hb B z równoczesnym istnieniem małej procentowej ilości Hb A z wyjątkiem owiec rasy wrzosówka, u których wpływy czynników warunkujących wytwarzanie Hb A są nieco większe ale nie przeważające.

Wyższe powinowactwo Hb A do tlenu (9, 10, 13) oraz częstsze jej występowanie u owiec ras górskich w porównaniu z częstszym występowaniem Hb B u owiec ras nizinnych stwierdzone przez Evansa i współprac. (4) przyczyniło się do wysunięcia twierdzenia co do istnienia zależności między typem hemoglobiny a rodzajem środowiska, w którym wytworzyły się poszczególne rasy. Według Evansa i współprac. pewne genotypy dawały prawdopodobnie organizmom znajdującym się w prymi-

tywnych warunkach bytowania większą możliwość przystosowania i stąd obecna sytuacja może być wynikiem działania selektywnych sił środowiska na prymitywne szczepy, które przez sztuczną selekcję oraz kierowane kojarzenie dały początek obecnym rasom owiec. Wydaje się, że przypuszczenia te są prawdziwe w świetle przeprowadzonych badań. Wynika z nich, że dla owiec prymitywnej rasy świniarka, żyjących nadal w warunkach podobnych do swoich przodków (wpływy innych ras były bardzo ograniczone) jest charakterystyczne wyłączone występowanie Hb B. Można więc przypuszczać, że owce przebadanych ras, wywodzą się ze szczepów, które żyły na terenach nizinnych. Wydaje się, że brak przewagi Hb A u górskich owiec rasy cakiel oraz względnie częste występowanie Hb A u owiec rasy wrzosówka w porównaniu z pozostałymi rasami ma wiele przyczyn. Rasy należy chyba rozpatrywać jako wynik złożonych genetycznych zależności różnego stopnia, razem wziętych z naturalną selekcją prymitywnych szczepów, które dały początek obecnym rasom. Intensyfikacja hodowli, sztuczna selekcja oraz uszlachetnianie ras dopełniły kompleksu uwarunkowań mających wpływ na ostateczne wytworzenie się stosunków genotypowo-fenotypowych u poszczególnych ras owiec.

PIŚMIENNICTWO

1. Cabannes R., Serain H.: Étude électrophorétique des hémoglobines des Mammifères domestiques d'Algérie. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, vol. 149, 1955.
2. Evans J. V. i współprac.: Genetics of Haemoglobin and Blood Potassium Differences in Sheep. *Nature*, vol. 178, 1956.
3. Evans J. V., Harris H., Warren F. L.: Haemoglobin and Potassium Blood Types in Some non-British Breeds of Sheep and in Certain Rare British Breeds. *Nature*, vol. 192, 1958.
4. Evans J. V., Harris H., Warren F. L.: The Distribution of Haemoglobin and Blood Potassium Types in British Breeds of Sheep. *Proc. Roy. Soc. B.*, vol. 149, 1958.
5. Evans J. V., Harris H., Warren F. L.: Haemoglobin Types in British Breeds of Sheep. *Biochem. J.*, vol. 65, 1957.
6. Harris H., Warren F. L.: Occurrence of Electrophoretically Distinct Haemoglobins in Ruminants. *Biochem. J.*, vol. 60, 1955.
7. Helm van der H. J., Timmer R., Huisman T. H. J.: Myoglobins from Sheep Homozygous for Different Haemoglobin Types. *Nature*, vol. 180, 1957.
8. Helm van der H. J., Vliet van G., Huisman T. H. J.: Investigation on Two Different Haemoglobins of the Sheep. *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 72, 1957.
9. Huisman T. H. J., Vliet van G., Sebens T.: Sheep Haemoglobins. *Nature*, vol. 182, 1958.
10. Huisman T. H. J. i współprac.: Investigations on Different Haemoglobin Types in some Species of Animals. Symposium organized by the Council for

- International Organizations of Medical Sciences edited by Jonxis J. H. P. and Delafresnaye, J. F. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1959.
11. Ingram F. M.: Gene Mutations in Human Haemoglobin: The Chemical Difference between Normal and Sickle Cell Haemoglobin. *Nature*, vol. 180, 1957.
 12. Jonxis J. H. P., Visser H. K. A.: Denaturations of Low Percentages of Foetal Haemoglobin in Blood of Normal Children. *A. J. Dis. Child.*, vol. 92, 1956.
 13. Kernohan J. C.: Kinetics of the Reactions of Two Sheep Haemoglobins with Oxygen and Carbon Monoxide. *J. Physiol.*, vol. 155, 1961.
 14. Pauling L. i współprac.: Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease. *Science*, vol. 110, 1949.
 15. Wiśliński M., Studziński T.: Badania hematologiczne nad rodzajem hemoglobiny u owiec. *Acta Physiol. Pol.*, vol. 11, 1960.

РЕЗЮМЕ

Методом бумажного электрофореза и щелочной денатурации обнаружены два типа гемоглобина. Исследованию были подвергнуты 307 овец 6 пород: меринос польский, каракул, цакель, цыгай, вжосувка и съвинярка, установлены также большие различия в распространенности обоих этих типов. Наиболее отличаются в этом отношении овцы породы съвинярка и каракул, а также овцы породы вжосувка. У овец породы съвинярка обнаружен лишь гемоглобин В. У овец породы каракул 28% гемоглобина А—В, а также 72% гемоглобина В, у породы вжосувка 17% гемоглобина А и 57% А—В, а также 26% В. Остальные породы характеризуются отчетливым преобладанием гемоглобина В при одновременном содержании небольшого процентного количества гемоглобина А.

Эти результаты указывают на существование некоторой зависимости содержания гемоглобина В от породы овец. Это особенно хорошо выражено в отношении пород съвинярка и каракул.

SUMMARY

Using the methods of filter paper electrophoresis and alkaline denaturation, the authors detected two types of haemoglobin in 307 sheep belonging to the following 6 breeds: Polish Merino, Karakul, Cakiel, Cygaj, Wrzosówka and Świniarka. Great differences in the frequency of the occurrence of these two types of haemoglobin were found. In this respect the greatest differences were observed between the breeds Świniarka, Karakul and Wrzosówka. Sheep of the Świniarka breed had Hb B

only; those of the Karakul breed had Hb A—B in 28 per cent, and Hb B in 72 per cent. In sheep of the Wrzosówka breed, Hb A was found in 17 per cent, Hb A—B in 57 per cent, and Hb B in 26 per cent. In sheep of the other breeds there was a distinct prevalence of Hb B; Hb A occurred in a small percentage.

These results point to a certain connection of the studied sheep, especially of the Świniarka and Karakul breeds, with the formation of HB b.