

Instytut Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego Akademii Rolniczej w Lublinie

Adam KĄDZIOŁKA, Stanisław PATYRA,
Tadeusz RUCIŃSKI, Tadeusz KOSTARZ

**Wpływ kumaryny na tłuszczowce osocza kogutów żywionych
dieta ą aterogenną**

Влияние кумарина на липоиды плазмы петухов, питанных атерогенной диетой

The Influence of Coumarin on the Fat of Plasma of Cocks Fed
on an Atherogenic Diet

Badania jednego ze współautorów i innych (3, 4, 5, 6, 7) nad wpływem kumaryny na ustrój zwierzęcy przekonały o jej korzystnym i wielozakresowym oddziaływaniu na szereg układów narządowych. Między innymi stwierdzono, że kumaryna działa depresyjnie na poziom cholesterolu całkowitego we krwi królików. Histochemicznie zauważono pobudzenie wątroby do glikoneogenezy, zaś hematologicznie — mobilizację obronnego układu mikrofagocytarnego krwi obwodowej.

W poprzednio przeprowadzonych badaniach na kurach rasy krajowej wykazano dużą podatność kur rasy „zielononóżka” na samoistną oraz doświadczalnie wywoływaną arteriosklerozę (1, 2). Zarówno obfite żywienie standardowe i trzymanie w zamknięciu kur wymienionej rasy, bez względu na płeć, jak i podawanie wysokokalorycznej karmy „miażdżycotwórczej” powodowało po pewnym czasie u tych ptaków zaburzenia metaboliczne, które charakteryzowały się wzrostem stężenia składników tłuszczowych osocza, a także obecnością zmian proliferacyjno-zwyrodnieniowych błony wewnętrznej i środkowej aorty oraz naczyń wieńcowych serca (8).

W związku z powyższym powstała potrzeba przekonania się o tym, czy kumaryna, substancja występująca u około 160 gatunków roślin, rzeczywiście wpływa obniżająco na poziom cholesterolu u ptaków przeciążonych dieta ą aterogenną i czy wywiera działanie tonizujące na inne składniki tłuszczowe przyjęte za wskaźniki aktywnego procesu miażdżycowego, a zatem czy przejawia zdolność antyaterogenną.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 35 jednorocznych kogutów rasy krajowej „zielononóżka”, wyhodowanych w ośrodku RZD w Felinie. Ptaki zostały podzielone na 2 grupy po 15 sztuk. Pierwszej grupie, nazwanej KChS, obok normalnego pożywienia podawano

codziennie przez 15 tygodni bezpośrednio do wola pigułkę o zawartości: 75 mg kumaryny, 250 mg cholesterolu, 1000 mg smalcu wieprzowego wraz z mąką pszenną jako zaróbką. Druga grupa, nazwana ChS, otrzymywała równolegle podobny „bolus”, bez dodatku kumaryny.

Ptaki przetrzymywano w zamknięciu. Żywiono je obficie pszenicą oraz mieszaną zawierającą składniki mineralno-witaminowe. Okres doświadczenia przypadł na miesiące zimowo-wiosenne.

Po upływie 3 tygodni wstępnego żywienia w odstępach 3-tygodniowych skrwawiano całkowicie po 3 sztuki z każdej grupy. Krew z dodatkiem krystalicznej heparyny pobierano bezpośrednio z serca.

Od 5 kogutów, żywionych standardowo i trzymanych w identycznych warunkach, pobrano krew jednocześnie z pierwszym skrwawieniem ptaków grup doświadczalnych. Tych 5 sztuk stanowiło tzw. kontrolną grupę zerową dla obydwu grup badawczych.

W uzyskanym osoczu oznaczano następujące związki: cholesterol całkowity i estrowy metodą Lifschütza, wolny — z różnicy pomiędzy cholesterolem całkowitym a estrowym. Tłuszcze całkowite oznaczano metodą Swahna. Lipidogram, w tym alfa i beta-lipoproteidy, oznaczano metodą Swahna. Uzyskane wartości liczbowe, po przeliczeniu ekstynkcji mierzonych na spektrofotokolorymetrze Coleman-J, w postaci średnich zamieszczono w tabeli oraz na wykresach.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Dodatek kumaryny w diecie kogutów grupy 1 nie przyniósł efektu, jak osiągnęli wymienieni we wstępie autorzy w badaniach na królikach. U królików kumaryna wykazała uchwytne działanie obniżające poziom cholesterolu we krwi, lecz zwierzęta te były przez okres doświadczenia żywione prawidłowo. Nie ma pewności, w jaki sposób zachowałby się ustrój królika chroniony kumaryną po obciążeniu aterogennie działającym egzogennym cholesterolem w ilości 5 g/kg wagi ciała. Podana ilość cholesterolu, w myśl klasycznego doświadczenia Aniczkowa, powoduje po pewnym czasie żywienia królika wybitną hipercholesterolemię i hiperbetalipoproteinemię oraz odpowiednie zmiany patomorfologiczne w naczyniach tętniczych. Nadmieniam, że wskazana ilość cholesterolu dla zwierzęcia wszystkożernego, zwłaszcza wykazującego genetyczne uwarunkowanie do arteriosklerozy, jest niezwykle duża i jedynie ustrój trawożernego królika może przez pewien czas znieść takie przeciążenie. W naszych badaniach koguty otrzymywały po 250 mg cholesterolu i 1 g smalcu w jednej dawce, przy czym jeden kogut ważył 1,8—2 kg. Z uwagi na dużą skłonność tej rasy ptaków do arteriosklerozy uznano, że podana ilość cholesterolu i smalcu, zawierającego w przewodzie nasycone kwasy tłuszczowe, mimo szybkiej przemiany materii kur stanowi znaczne przeciążenie ich ustroju.

Poziom stężenia związków tłuszczowych w osoczu, jak wspomniano poprzednio, badano 5-krotnie w odstępach 3-tygodniowych.

Dawkę kumaryny w ilości 75 mg na jedną sztukę w grupie KChS pta-

ki znosiły dobrze. We wstępnych próbach wprowadzono dawkę, która wyniosła 100 mg. Wielkość ta okazała się za wysoka, ponieważ wystąpiło zjawisko odurzenia, a nawet senności. W okresie adaptacji ptaków do zmienionego środowiska u kilku sztuk wyłączonych z doświadczenia wystąpiły objawy salmonelozы. Dostrzeżono, że koguty, którym podawano próbnie kumarynę, przechodziły chorobę w postaci poronnej. O chorobie przekonały badania sekcyjne i bakteriologiczne. Powyższa obserwacja potwierdza działanie kumaryny dostrzeżone przez Patyrę i wsp. jako nieswoistego czynnika biogenneгo wzmagającego odporność ustroju na chorobę zakaźną.

Jak zaznaczono na początku, u ptaków 1 grupy (KChS) w warunkach stosowania aterogennej diety cholesterolowo-tłuszczowej dodatek kumaryny nie spowodował obniżenia badanych związków tłuszczowych w stosunku do grupy 2 (ChS), żywionej dietą o podobnym składzie, lecz bez dodatku kumaryny. Co więcej, tłuszcz całkowity w grupie 1 wykazał w osoczu wyraźny wzrost stężenia.

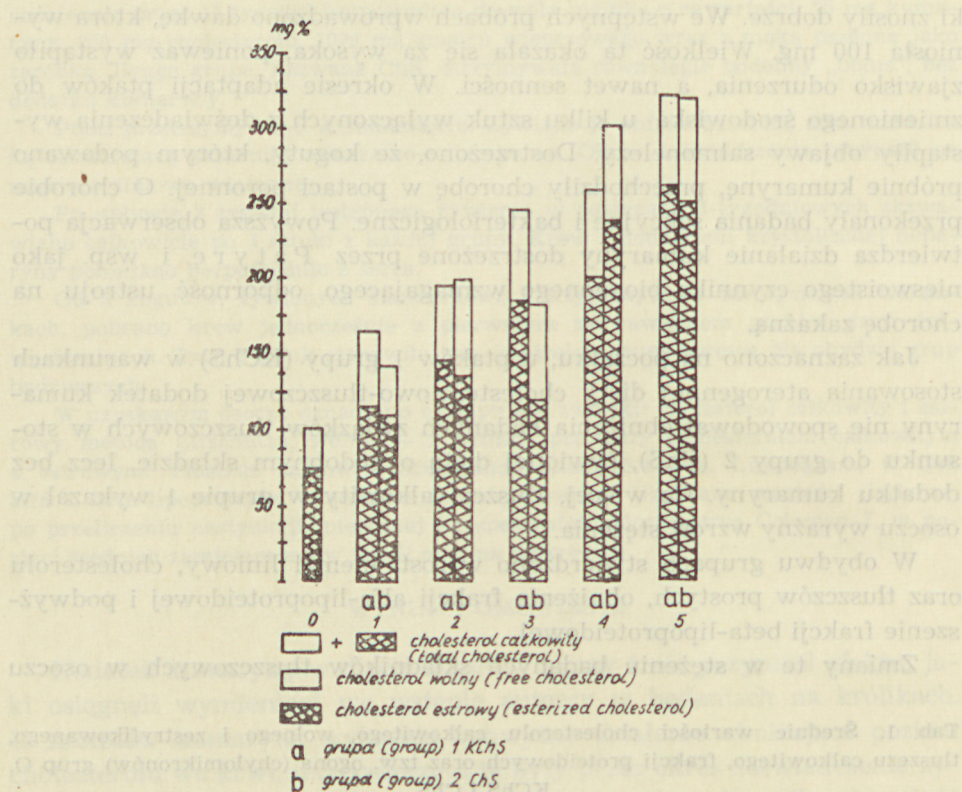
W obydwu grupach stwierdzono wzrost, niemal liniowy, cholesterolu oraz tłuszczów prostych, obniżenie frakcji alfa-lipoproteidowej i podwyższenie frakcji beta-lipoproteidowej.

Zmiany te w stężeniu badanych składników tłuszczowych w osoczu

Tab. 1. Średnie wartości cholesterolu całkowitego, wolnego i zestryfikowanego, tłuszczu całkowitego, frakcji proteidowych oraz tzw. ogona (chylomikronów) grup O, KChS i ChS

The mean value of total, free and esterized cholesterol, total fats, alfa and beta-lipoproteins and chylomicrons in groups O, KChS and ChS

Pobranie i grupa	Cholesterol całkow. wolny, estrowy			Tłuszcz całkow.	Alfa lipoproteidy %	Beta	Ogon %
0	101,8	26,1	75,7	365,8	57,5	26,8	16,3
1	165,5	51,5	114,0	720,0	54,0	27,8	18,2
2	193,3	50,4	142,9	809,5	49,4	36,1	15,5
3	244,0	58,5	185,5	1033,6	41,1	37,6	20,5
4	258,5	58,1	200,4	464,2	33,4	47,8	18,7
5	320,2	60,2	260,0	1285,6	36,6	50,8	12,4
1	141,9	49,4	92,1	480,0	51,5	27,6	20,8
2	198,3	59,3	137,0	547,6	51,7	27,6	20,6
3	182,9	64,5	118,4	726,0	40,7	43,1	10,1
4	301,5	63,0	238,5	619,0	34,8	51,6	13,3
5	319,2	66,8	252,4	704,4	32,0	56,3	15,0



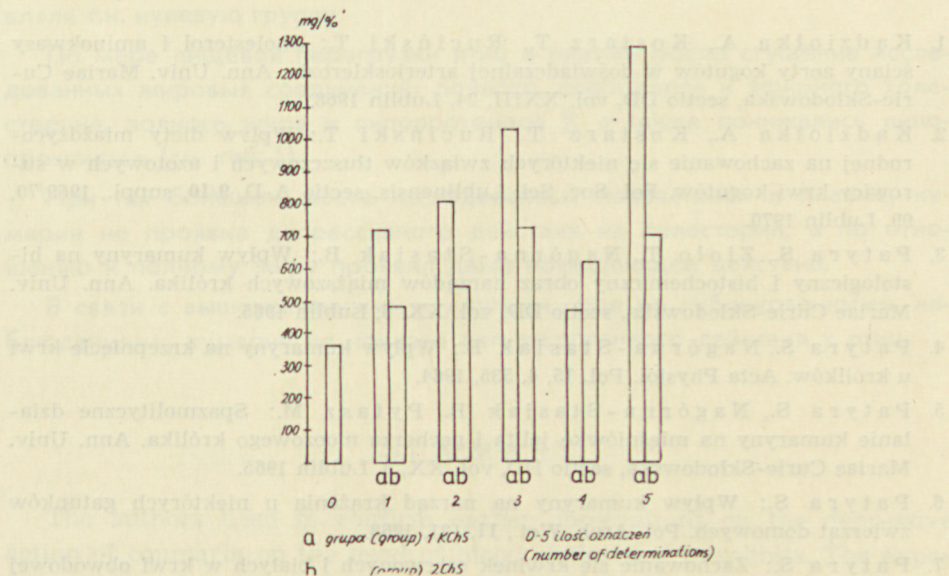
Ryc. 1. Cholesterol
Cholesterol

były typowe dla przeciążającego żywienia, prowadzącego bezpośrednio do zmian arteriosklerotycznych w naczyniach tętniczych.

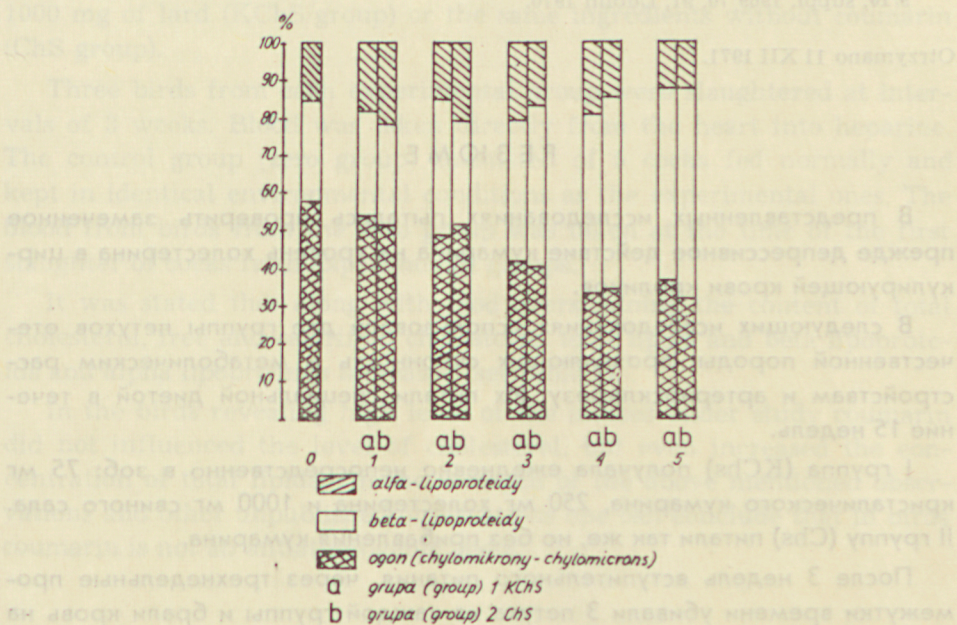
Tabela 1 ilustruje wartości stężeń badanych składników u obydwu grup oraz wartości, które uzyskano w tzw. grupie zerowej. Postępujący w miarę upływu czasu żywienia stały wzrost i nieznaczne wahania w stężeniu badanych składników tłuszczowych przedstawiają zamieszczone diagramy.

Z całości badań wynika, że kumaryna podawana w dawce dziennej w ilości 75 mg kogutom, u których poprzez dietę wzbudzono hipercholesterolemię i hiperlipamię, nie przejawiała działania obniżającego poziom wymienionych związków tłuszczowych, służących w badaniach nad arteriosklerozą za wskaźniki aktywnego procesu aterogennego.

Spostrzeżenia o dodatnim wpływie kumaryny na stopień odporności przeciwwakażnej zasługują na tym większą uwagę, że związek ten występuje dość powszechnie w wielu roślinach wchodzących w skład karmy trawożernych.



Ryc. 2. Tłuszcz całkowity
Total fat



Ryc. 3. Lipidogram
Lipidogram

PIŚMIENICTWO

1. Kądziołka A., Kostarz T., Ruciński T.: Cholesterol i aminokwasy ściany aorty kogutów w doświadczalnej arteriosklerozie. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD*, vol. XXIII, 24, Lublin 1968.
2. Kądziołka A., Kostarz T., Ruciński T.: Wpływ diety miażdżycorodnej na zachowanie się niektórych związków tłuszczowych i azotowych w surowicy krwi kogutów. *Fol. Soc. Sci. Lublinensis, sectio A-D*, 9/10, suppl., 1969/70, 99, Lublin 1970.
3. Patyra S., Zioło T., Nagórna-Stasiak B.: Wpływ kumaryny na histologiczny i histochemiczny obraz narządów mięsnych królika. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD*, vol. XX, 5, Lublin 1965.
4. Patyra S., Nagórna-Stasiak B.: Wpływ kumaryny na krzepnięcie krwi u królików. *Acta Physiol. Pol.* 15, 4, 535, 1964.
5. Patyra S., Nagórna-Stasiak B., Pytasz M.: Spazmolityczne działanie kumaryny na mięśniówkę jelita i pęcherza moczowego królika. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD*, vol. XX, 3, Lublin 1965.
6. Patyra S.: Wpływ kumaryny na narząd krążenia u niektórych gatunków zwierząt domowych. *Pol. Arch. Wet.*, 11, 121, 1968.
7. Patyra S.: Zachowanie się krwinek czerwonych i białych w krwi obwodowej królika po kumarynie. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD*, vol. XXIII, 12, Lublin 1968.
8. Rubaj B., Kądziołka A.: Dynamika rozwoju zmian mikroskopowych w doświadczalnej arteriosklerozie kogutów. *Fol. Soc. Sci. Lublinensis, sectio A-D*, 9/10, suppl. 1969/70, 91, Lublin 1970.

Otrzymano 11 XII 1971.

РЕЗЮМЕ

В представленных исследованиях пытались проверить замеченное прежде депрессивное действие кумарина на уровень холестерина в циркулирующей крови кроликов.

В следующих исследованиях использовали две группы петухов отечественной породы, проявляющих склонность к метаболическим расстройствам и артериосклерозу. Их питали специальной диетой в течение 15 недель.

I группа (KChs) получала ежедневно непосредственно в зоб: 75 мг кристаллического кумарина, 250 мг холестерина и 1000 мг свиного сала. II группу (Chs) питали так же, но без прибавления кумарина.

После 3 недель вступительного питания, через трехнедельные промежутки времени убивали 3 петуха из каждой группы и брали кровь на гепарин непосредственно из сердца.

Одновременно взяли кровь от 5 птиц, питанных стандартно и про-

бывающих в таких же условиях, как опытные петухи. Эти птицы составляли т.н. нулевую группу.

По мере пищевой перегрузки птиц в плазме росло сгущение исследованных жировых соединений: полного, свободного и эфирного холестерина, полного жира и липопротеидов β , а также понижались липопротеиды α (см. таб. 1).

При так большом росте исследованных показателей в плазме, кумарин не проявил депрессивного действия на холестерин, а по отношению к полному жиру проявил даже повышающее действие.

В связи с вышеуказанными и другими, еще не опубликованными, наблюдениями, кумарин не показал антиатерогенного действия у птиц.

SUMMARY

The authors tried to confirm earlier observations on the depressive action of coumarin on the level of blood cholesterol in rabbits. The experiments were carried out in two groups of cocks native breeding, revealing certain inclination to metabolic disorders and atheromatosis. The birds were given directly into the goiter for the period of 15 weeks the following diet: 75 mg of crystalline coumarin, 250 mg of cholesterol and 1000 mg of lard (KChS/group) or the same ingredients without coumarin (ChS group).

Three birds from each experimental group were slaughtered at intervals of 3 weeks. Blood was taken directly from the heart into heparine. The control group (zero group) consisted of 5 cocks fed normally and kept in identical environmental conditions as the experimental ones. The blood from birds from the zero group was taken at the time of the first slaughter of cocks from experimental groups.

It was stated that along with food overstraining the content of total cholesterol, free and esterified cholesterol, total lipids and beta lipoproteids and alpha lipoproteins increased (see table 1).

In the birds revealing high level of the indices under study coumarin did not influenced the level of cholesterol, but even increased the concentration of total lipids. On the strength of the above mentioned observations and other unpublished observations one can conclude that in birds coumarin is not an antiatherogenic agent.