

nej, była u kurek podobna, a u kogutków otrzymujących PGP większa niż w grupie kontrolnej, co świadczy o nasileniu procesów tworzenia kości (rys. 5 i 6).

Prowadzone są intensywne prace nad stosowaniem różnych dodatków paszowych, które zwiększałyby przyrosty masy mięśniowej oraz wykorzystanie energii paszy, a także poprawiały stan zdrowia zwierząt i obniżały koszty produkcji. Obecnie produkowane są różne kompleksy organiczno-mineralne, enzymy paszowe i inne stymulatory wzrostu, których wprowadzenie do paszy wpływa na efekty produkcyjne w następstwie polepszenia strawności składników pokarmowych, zmniejszenie zużycia paszy i lepsze jej wykorzystanie.

Otrzymane w naszych doświadczeniach wyniki, dotyczące zmian mechanicznych i strukturalnych badanych kości, wskazują na potrzebę wyjaśnienia związku między stosowaniem dodatku fosforylowanych peptydów do paszy a procesami wzrostu i mineralizacji układu kostno-szkieletowego u kurcząt brojlerów.

Literatura: 1. **Burton R.W., Sheridan A.K., Howlett C.R.:** Brit. Poultry Sci. 22, 153, 1981; 2. **Dziedzic-Goctawska A.:** Tkanka kostna. W: Ostrowski K. (Ed.). Histologia. PZWL, Warszawa 1995; 3. **Edwards H.M., Valtemann J.R.:** J. Nutr. 113, 1568, 1988; 4. **Elliot M.A., Robertson K.D., Rowland K.D., Edwards H.M.:** Poultry Sci. 74, 1495, 1995; 5. **Fleming R.H., Van Niekerk T.G., Whitehead C.C.:** Brit. Poultry Sci. 37, S32, 1996; 6. **Haye U., Simons P.:** Poultry Sci. 19, 549, 1978; 7. **Leach R.M.:** J. Nutr. 86, 236, 1965; 8. **Leach R.M., Nesheim M.C.:** J. Nutr. 102, 1073, 1972; 9. **Leach R.M., Twal W.O.:** Poultry Sci. 73, 883, 1994; 10. **Lilburn M.S.:** Poultry Sci. 68, 1263, 1989; 11. **Kazberuk W., Badurski J.E.:** Postępy Osteoartrologii 9, 143, 1997; 12. **Radzki R.P., Bieńko M., Puzio I., Studziński T.:** Acta Orthop. Scand. (Suppl. 287) 70, 30, 1999; 13. **Sullivan T.W.:** Poultry Sci. 73, 879, 1994; 14. **Thorp B.H.:** Abnormalities in The Growth of Leg Bones. In: Thorp B.H. (Ed.) Bone Biology and Skeletal Disorders of Poultry. 1992; 15. **Turner C.:** Endokrynologia ogólna. PWRiL, Warszawa 1964; 16. **Turner R.T., Rings B.L., Spelsberg T.C.:** Endocr. Rev. 15, 275, 1994; 17. **Walser M.M.:** Vocabulary list of noninfectious skeletal diseases of poultry. NCR-141 Supplement Department of Veterinary Pathobiology, University of Minnesota, St. Paul, MN; 18. **Zhang X., McDaniel G.R., Yalcin Z.S., Kuhlers D.L.:** Poultry Sci. 74, 910, 1995.

Wpływ L-alanylo-L-glutaminy na cechy wytrzymałościowe kości kończyn prosiąt w okresie postnatalnym

**Marta Pawłowska, Sylwester Kowalik,
Magdalena Smyk, Alicja Dec, Sylwia E.
Szymańczyk, José L. Valverde Piedra,
Tadeusz Studziński**

AR w Lublinie

Współczesne badania nad zapobieganiem schorzeniom układu ruchu, w tym i układu kostnego kończyn, obejmują także procesy fizjologicznego rozwoju i mineralizacji kości w okresie życia neonatalnego i postnatalnego zwierząt [3, 4, 6, 10, 11, 13]. Sam proces porodu i pierwsze godziny życia wyzwala działanie wielu czynników, poczynając od pokarmowego pobudzenia i resorpcji metabolitów trawienia, w tym także resorpcji składników mineralnych potrzebnych do mineralizacji układu kostno-szkieletowego, oraz inicjacji działania sił grawitacyjnych i obciążeń dynamicznych kości kończyn, warunkowanych głównie aktywnością lokomotoryczną noworodka. Nie poznano dotychczas wzrostu, rozwoju i mineralizacji kości kończyn oraz szkieletu osiowego, a także przebiegu tych

procesów u prosiąt w okresie postnatalnym, w zależności od żywienia, sposobu odchowu oraz czynników genetycznych.

Układ kostno-szkieletowy pełni funkcje ochronne, podporowe oraz nośne i stanowi wraz z układem mięśni szkieletowych oraz stawami funkcjonalną jednostkę, warunkującą czynności motoryczne organizmu, a jej naruszenie ujawnia się zaburzeniami funkcji motorycznych, inicjujących i obejmujących zmiany zarówno układu mięśni szkieletowych, jak i układu kostno-szkieletowego u ludzi i zwierząt.

Intensywna selekcja w hodowli świń doprowadziła do uzyskania ras o wysokim potencjale produkcyjnym, jednak równocześnie pojawiły się zaburzenia czynności układu ruchowego i patologie kostno-stawowe. U prosiąt może się pojawić już w pierwszych godzinach życia zespół tzw. rozchodzenia się kończyn tylnych, uwarunkowany słabością więzadeł stawowych i mięśni kończyn, o podłożu genetycznym, a w dalszych okresach rozwoju prosiąt często występuje krzywica, będąca następstwem niedostatecznej mineralizacji kości. Jedną ze zmian patologicznych szkieletu, o nieznannej etiologii, jest osteochondroza pojawiająca się u prosiąt w okresie postnatalnym. Charakteryzuje się ona zahamowaniem wzrostu, degeneracją tkanki chrzęstnej w rosnących i formujących się kościach oraz wysoką śmiertelnością. Zmiany osteochondrotyczne u świń występują najczęściej w kościach długich – kości udowej i ramiennej, a ich istotą są procesy osteolityczne powierzchni stawowej kości lub nieregularności wzrostu płytki nasadowej. Ujawniają się one wcześniej w kości ramiennej niż kości udowej.

Niedożywienie, a także źle zbilansowana dieta są m.in. przyczyną ujemnego bilansu azotu w organizmie, a w konsekwencji zahamowania wzrostu. Dodatek glutaminy i jej pochodnych metabolitów może przeciwdziałać tym procesom [8, 9, 14, 15, 16].

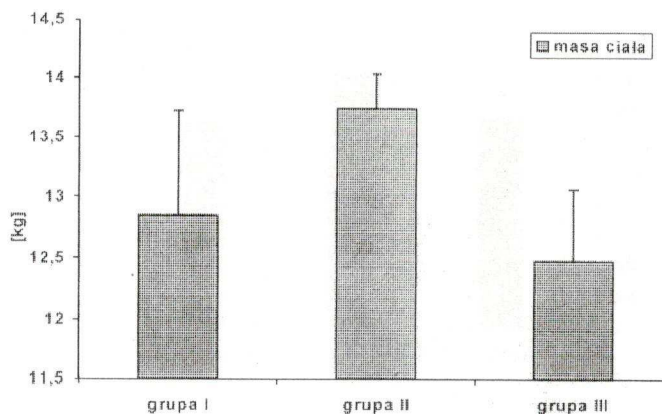
Działanie glutaminy i jej pochodnych rozpoczyna się w przewodzie pokarmowym poprzez wpływ na resorpcję metabolitów trawienia. Glutamina i jej metabolity mogą również wpływać na inne narządy, a także na barierę przeciwdziałającą translokacji bakterii jelitowych oraz utrzymanie sprawności jelitowej homeostazy bakteryjnej [7, 9, 16]. Uwzględniając systemowe działanie glutaminy i jej pochodnych stymulujących procesy wzrostowe poprzez wzrost sekrecji hormonów i czynników wzrostu, można zakładać, że to działanie może być skierowane pośrednio lub bezpośrednio także na rozwój kośćca osiowego i kończyn.

Glutamina i jej metabolity determinują szybkość jelitowego dojrzewania enterocytów i ich sprawność funkcjonalną związaną z resorpcją produktów trawienia, a także ich wykorzystanie do syntezy białek strukturalnych, w tym białek kolagenowych kości. Białka te są głównymi składnikami struktur sprężystych, determinujących cechy wytrzymałościowe i sprężystość kości [1, 2, 3]. Należy podkreślić, że glutamina jest niezbędna dla optymalnego wzrostu większości tkanek, a jej endogenna synteza, łącznie z pulą pokarmową, może być niedostateczna dla pokrycia zapotrzebowania organizmu szybko rosnącego lub poddanego działaniu stresu [9, 12, 15, 16].

Celem pracy było poznanie rozwoju, wzrostu i mineralizacji układu kostno-szkieletowego prosiąt w pierwszym okresie życia oraz określenie wpływu L-alanylo-L-glutaminy na cechy wytrzymałościowe i geometryczne kości. Doświadczenie przeprowadzono na 46 prosiątach w wieku od 1 do 56 dni, pochodzących od 9 matek rasy w.b.p., żywionych według polskich norm żywieniowych. Prosięta przebywały z matkami, a od 28 dnia życia podawano im mieszankę pełnoporcjową PP-prestarter. Podzielono je na 3 grupy: kontrolną (I) i dwie doświadczalne (II i III). W grupie II prosięta otrzymywały doustnie, co drugi dzień, począwszy od 28 dnia życia, 0,4 mg/kg m.c. L-alanylo-L-glutaminy (L-a-L-g); w grupie III L-a-L-g podawano podskórnie, w formie iniekcji, w takiej samej dawce i z taką samą częstotliwością. Po 28 dniach od rozpoczęcia podawania L-a-L-g, tj. w 56 dniu życia, prosięta ubito i wyizolowano kości ramienne i udowe. Właściwości mechaniczne kości oznaczano na podstawie trójpunktowego testu ugięcia, przy użyciu aparatu INSTRON 4302 [5]. Oznaczano również parametry geometryczne kości, takie jak: wtórny moment bezwładności, pole przekroju poprzecznego i średnia względna grubość ścian. Do badań histologicznych próbki kości przygotowywano według standardowych metod, a oznaczanie prowadzono przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego Nikon Eclipse E 800.

Największy przyrost masy ciała stwierdzono w grupie prosiąt karmionych L-a-L-g *per os*, w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast najmniejszy w grupie prosiąt, którym podawano L-alanylo-L-glutaminę podskórnie. Różnice między średnimi nie były jednak statystycznie istotne (rys. 1 i 2).

W siódmym tygodniu życia, tj. po upływie 28 dni od rozpoczęcia podawania L-alanylo-L-glutaminy, średnia wartość siły krańcowej kości ramiennej i udowej była największa u prosiąt grupy II (1577,0 N i 1642,0 N), a najmniejsza w grupie III (1276,0 N i 1318,0 N). Różnice między średnimi grupy kon-

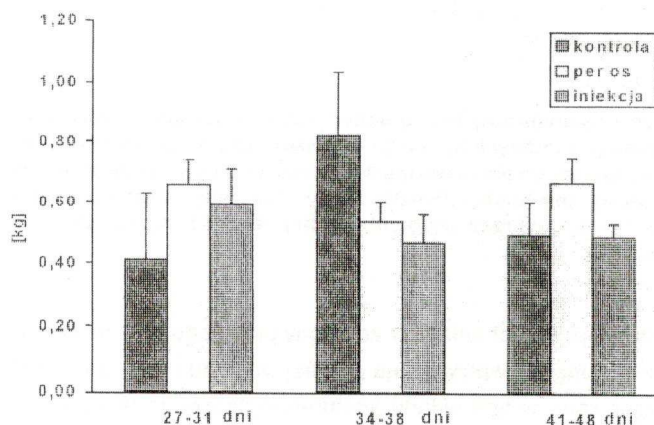


Rys. 1. Masa ciała prosiąt z grupy kontrolnej (I) i grup doświadczalnych (II i III) w 7 tygodniu życia

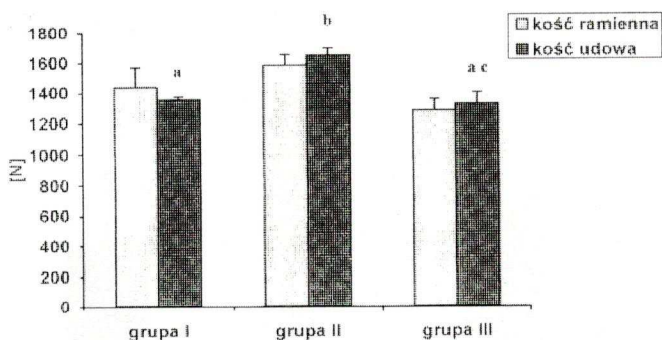
trojnej (I) i grupy II oraz grupy II i III były statystycznie istotne w przypadku kości udowej i ramiennej (rys. 3). W drugim tygodniu życia pojawiały się nasadach cienkie i nieliczne beleczki kostne. W trzonie widoczny był dobrze rozwinięty mankiet kostny, a wewnątrz kanału wypełnione było licznymi i dużymi beleczkami kostnymi. Niewielką tendencją wzrostową średniej względnej grubości ścian kości ramiennej stwierdzono w grupie II i III, podobnie do tendencji wzrostowej kości udowej w grupie II (rys. 4).

Wzrost średniej względnej grubości ścian najbardziej uwidocznił się w kości udowej w grupie otrzymującej L-alanylo-L-glutaminę doustnie, zaś największy spadek tej wartości – w grupie prosiąt otrzymujących ten dwupeptyd w postaci iniekcji (rys. 4).

Otrzymane wyniki wskazują, że sposób podawania L-alanylo-L-glutaminy wpłynął w różny sposób na przyrosty masy ciała prosiąt oraz na właściwości fizyczne i geometryczne badanych kości. Doustne podawanie L-alanylo-L-glutaminy powodowało zwiększenie przyrostów masy ciała oraz wzrost wartości takich parametrów kości, jak siła krańcowa i maksy-

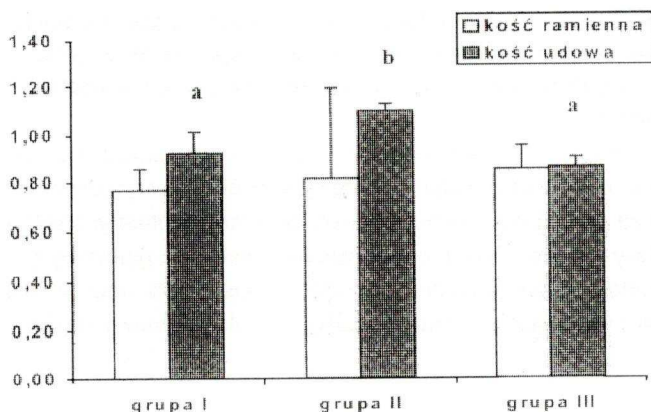


Rys. 2. Przyrosty masy ciała prosiąt kontrolnych (grupa I) i otrzymujących L-alanylo-L-glutaminę (grupa II i III) w trzech okresach życia. Różnice między średnimi grupy I i II oraz III, a także grupy II i III nie były statystycznie istotne



Rys. 3. Siła krańcowa kości ramiennej i udowej prosiąt kontrolnych (grupa I) i otrzymujących L-alanylo-L-glutaminę *per os* (grupa II) i podskórnie (grupa III). Litery oznaczają statystycznie istotne różnice między grupami w obrębie poszczególnych kości ($P \leq 0,05$)

malna siła elastyczna oraz parametrów geometrycznych, takich jak względna grubość ścian kości i pole przekroju poprzecznego. Przy podawaniu L-alanylo-L-glutaminę w formie iniekcji podskórnych wystąpiła tendencja do zmniejszania zarówno przyrostów masy ciała, jak i wartości parametrów mechanicznych i geometrycznych kości ramiennej i udowej. Można zatem sądzić, że oddziaływanie L-alanylo-L-glutaminę podawanej doustnie powiązane jest z działaniem bliżej nie



Rys. 4. Średnia względna grubość ściany kości ramiennej i udowej prosiąt kontrolnych (grupa I) i doświadczalnych (grupa II i III). Różnice między średnimi wartościami kości udowej w grupie II i III były statystycznie istotne ($P \leq 0,05$). Litery oznaczają statystycznie istotne różnice między grupami w obrębie poszczególnych kości ($P \leq 0,05$)

poznanych mechanizmów ze strony przewodu pokarmowego, które dodatkowo wpływają na procesy wzrostu i rozwoju całego organizmu, w tym układu kostno-szkieletowego prosiąt w okresie postnatalnym. Natomiast pozajelitowe podawanie L-alanylo-L-glutaminę działa supresyjnie na te procesy.

Glutamina stanowi podstawowe źródło energii i azotu najlepiej wykorzystywane przez enterocyty, limfocyty i fibrobla-

sty. Można sugerować, że glutamina jest niezbędna nie tylko dla osteoblastów, ale także że stopień jej dostępności determinuje funkcje kościotwórcze – syntezy kolagenu i białek macierzy kostnej. Integralność nabłonka jelitowego zapewnia utrzymanie wysokiego poziomu wolnej puli glutaminę w mięśniach szkieletowych, która stanowi o jej dostępności dla innych tkanek, a także warunkuje utrzymanie dodatniego bilansu azotowego u młodych, rosnących osobników.

Dla wyjaśnienia działania badanego dwupeptydu należy uwzględnić syntezę prolina z glutaminianu, która jest prawie wyłącznie związana z syntezą kolagenu, występującego w największej ilości w tkance łącznej i kościach. Z ornityno- α -ketoglutaranu i α -ketoglutaranu, pod wpływem działania dehydrogenazy glutaminianowej, syntetazy glutaminowej i transaminaz, powstają liczne aminokwasy, a wśród nich glutamina, asparagina i arginina oraz prolina i hydroksyprolina. Kolagen zawiera około 1/3 glicyny oraz 1/3 prolina i hydroksyprolina z całości aminokwasów wchodzących w skład tego białka. Prolina jest prekursorem hydroksyprolina, która – o ile nie pochodzi z białka pokarmu – nie jest „włączana” do kolagenu. Tylko prolina zawarta w pokarmie jest prekursorem hydroksyprolina kolagenu. Wysoka zawartość i dostępność prolina z przewodu pokarmowego może więc powodować jej włączanie do struktury kolagenu w kościach. Trudno jednak wyjaśnić inne działanie L-alanylo-L-glutaminę podanej podskórnie niż doustnie. Można sądzić, że dobremu rozwojowi młodego organizmu, wyrażonemu przyrostami masy ciała, towarzyszy również rozwój cech wytrzymałościowych i geometrycznych kości kończyn. Działanie L-alanylo-L-glutaminę może więc być efektem wtórnego, a nie pierwotnego działania glutaminę podawanej w formie peptydu. Uwzględniając w przyszłości możliwość wykorzystania glutaminę – w jej formie dwupeptydowej i innych postaciach – do uzupełniania diety w celu uzyskiwania lepszych wyników produkcyjnych w odchowcie prosiąt, uzasadnione wydaje się prowadzenie dalszych badań nad mechanizmami oddziaływania glutaminę i jej pochodnych na te procesy.

Literatura: 1. Badurski J., Sawicki A., Boczoń S.: Osteoporoza. Osteoprint, Białystok 1994; 2. Bruce M.R.: J. Biomech. 24, 79-88, 1991; 3. Conzemius M.G., Smith G.K., Brighton C.T., Marion M.J., Gregor T.P.: Amer. J. Vet. Res. 55, 22-27, 1994; 4. Ekman S., Rodriguez-Martinez H., Plöen L., Jansson A.: Acta Anat. 139, 239-253, 1990; 5. Ferretti J.L., Capozza N., Mondelo N., Zanchetta J.R.: J. Bone Miner. Res. 8, 1389-1396, 1993; 6. Forwood M.R., Owan I., Takano Y., Turner C.H.: Amer. J. Physiol. 270, E419-E423, 1996; 7. Nissim J.: Amer. J. Physiol. 227 (Renal Physiol. 46), F493-F497, 1999; 8. Obst B.S., Diamond J.M.: Auk 109, 451-464, 1992; 9. Pierzynowski S.G., Sjodin A.: J. Anim. Feed Sci. 7, Suppl. 1, 79-91, 1998; 10. Rath N.C., Huff G.R., Huff W.E., Balog J.M.: Poultry Sci. 79, 1024-1032, 2000; 11. Salyers A.: Nature 384, 303, 1996; 12. Sharp D.J., Tanner K.E., Bonfield W.: J. Biomech. 8, 853-857, 1990; 13. Studziński T., Pawłowska M., Niedźwiedz M., Gawron A., Łuszczewska I.: Acta Orthop. Scand. 70, Suppl. 287, 43-44, 1999; 14. Śliwa E., Radzki R.P., Puzio I.: Med. wet. 53, 156-158, 1996; 15. Toloza E.M., Diamond J.M.: Amer. J. Physiol. 263 (Gastrointest. Liver Physiol. 26), G593-G604, 1992; 16. Yoo S.S., Field C.J., McBurney M.I.: J. Nutr. 127, 2253-2259, 1997.