

E. DOMAŃSKI, D. DOBROWOLSKA, E. ZALEWSKA

## WPLYW ANTYBIOTYKÓW NA PRZEMIANĘ KW. ASKORBINOWEGO I FOLIOWEGO U KURCZĄT

Z Zakładu Higieny Zwierząt Instytutu Weterynarii w Bydgoszczy  
Kierownik: prof. dr E. Domański

Z poprzedniej naszej pracy (1) wynikało, że diety o niezrównoważonej zawartości kw. askorbinowego lub foliowego w stosunku do innych witamin rozpuszczalnych w wodzie wywołują u kurcząt anemię oraz zmiany wsteczne w narządach mięsnych, a szczególnie w wątrobie. Wykazano, że u zwierząt na diecie nie zawierającej kwasu askorbinowego, a stosunkowo ubogiej w kwas foliowy i inne witaminy z grupy B, zmiany w krwi oraz procesy wsteczne w wątrobie występowały u nieznacznej tylko ilości osobników i były na ogół słabo wyrażone. Natomiast po uzupełnieniu diety zestawem witamin rozpuszczalnych w wodzie, z wyłączeniem jednak z tego zestawu kwasu askorbinowego albo foliowego lub też równocześnie obydwu tych czynników, wymienione zaburzenia wystąpiły w znacznie wyraźniejszej postaci i u większej ilości osobników. Z intensywności objawów chorobowych występujących przy dietach, uzupełnianych niekompletnym zestawem witamin, można było wnioskować o współzależności funkcji kwasu askorbinowego i foliowego.

Z dotychczasowych danych na temat współzależności funkcji wymienionych substancji nie mamy jednak dostatecznych wiadomości o istocie tego zjawiska. Istnieją dwa twierdzenia: jedno — że kwas askorbinowy warunkuje przejście kwasu foliowego do jego bardziej czynnej pochodnej, tzw. *citrovorum factor* (7), druga — że kwas foliowy stimuluje syntezę kwasu askorbinowego (3, 4, 5, 8).

W obecnej pracy postanowiono zbadać wpływ antybiotyków na przemianę kwasu askorbinowego i foliowego oraz, na tej drodze, próbowano rzucić światło na zjawisko współzależności wymienionych ciał.

### METODYKA

Kurczęta żywiono w 8 grupach dietami komponowanymi podobnie jak w doświadczeniu uprzednim, (cytowanym na wstępie), lecz uzupełnianymi aureomycyną i streptomycyną. W skład poszczególnych diet wchodziła dieta podstawowa, którą uzupełniano zróżnicowanym zestawem witamin oraz antybiotykami.

#### a) Skład diety podstawowej (d. p.)

pszenica śrutowana	30 g
owies śrutowany (przesiew)	20 g
kukurydza śrutowana	18 g
otręby pszenne	15 g
kazeina dewitaminizowana	15 g

mieszanka mineralna	2 g
witamina B <sub>12</sub>	0,005 mg
„ K	0,1 „
„ E	5,0 „
witamina A i D w postaci tranu w ilości 2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> w stosunku do d. p.	

b) Uzupełniający zestaw witamin rozpuszczalnych w wodzie:

kwask foliowy	0,1
tiamina	0,3
ryboflawina	0,6
pirydoksyna	0,6
pantotenian wapnia	0,8
kwask askorbinowy	4,0 mg/100 g d. p.

Zawartość kw. foliowego w d. p. wynosiła 0,52 mg/100 g. Ostatecznie skład diet dla poszczególnych grup kurcząt przedstawiał się następująco:

dieta 1: d. p. jako dieta kontrolna;

dieta 2: d. p. uzupełniona zestawem witamin rozpuszczalnych w wodzie bez kwasu foliowego;

dieta 2a: d. p. uzupełniona zestawem witamin rozpuszczalnych w wodzie bez kwasu askorbinowego;

dieta 2b: d. p. uzupełniona zestawem witamin rozpuszczalnych w wodzie bez kwasów foliowego i askorbinowego.

Dla dalszych 4 grup kurcząt przygotowano diety identyczne jak powyższe, lecz z dodatkiem 0,001 g streptomycyny oraz 0,0015 g aureomycyny na każde 100 g paszy; diety te oznakowano w analogiczny sposób jak wyżej, używając cyfr rzymskich zamiast arabskich, a więc I, II, IIa, IIb. Grupa kurcząt na każdej diecie liczyła 20 sztuk.

Jako materiału zwierzęcego użyto kurcząt rasy karmazyn z wylęgu w miesiącu maju. Kurczęta od drugiego dnia życia żywiono na dietach zróżnicowanych. Czas obserwacji wynosił 30 dni. W czasie obserwacji w okresach dekadowych ważono poszczególne grupy oraz badano krew obwodową (ilość erytrocytów i Hb oraz wzór białokrwinkowy). Ponadto w tych samych okresach skrwawiano wybrane przypadkowo 5 sztuk z każdej grupy i pobierano próbki wątrób do oznaczeń zawartości kwasów foliowego i askorbinowego oraz do badań histologicznych. Kwask foliowy oznaczano metodą mikrobiologiczną przy użyciu *Streptococcus faecalis* na pożywce wg Roberta i Snella (6); kwask askorbinowy zaś wg metody Roe i Kuethera za pomocą reakcji barwnej, jaką daje forma DHA z 2,4-dwunitrofenylohydrazyną (2). Występowanie procesów wstecznych w wątrobie określono na podstawie oglądania narządu okiem nieuzbrojonym oraz badania histologicznego; preparaty histologiczne sporządzano przy użyciu powszechnie stosowanych metod. Nasilenie procesów wstecznych oceniano na podstawie odczytu 1000 komórek w wątrobie każdego kurczęcia, wybranych losowo. Poszczególne komórki szeregowano na wykazujące budowę normalną oraz wykazujące zmiany wsteczne; te ostatnie szeregowano jeszcze wg nasilenia zmian, przyjmując klasyfikację trójstopniową. Poszczególne rodzaje komórek 5 skrwawionych kurcząt z poszczególnych grup sumowano i wykazano je w procentowym stosunku do ogółu odczytanych komórek.

## WYNIKI

### Występowanie zmian w krwi obwodowej oraz procesów wstecznych w wątrobie

Na wstępie należy nadmienić, że wszystkie prawie kurczęta w ciągu pierwszych 10 dni życia wykazywały zmiany w krwi obwodowej w postaci oligo- i polichromazji. Zmiany te pod względem morfologicznym były identyczne z opisanymi przez nas w pracy poprzedniej, a powstały na tle niedoboru lub braku równowagi kwasów foliowego i askorbinowego w stosunku do innych witamin rozpuszczalnych w wodzie. Ponieważ występo-

wały już w pierwszych dniach po wykluciu się, uważaliśmy je za wyraz niedoborów wymienionych składników w jajach, znoszonych przez kury w okresie późnowiosennym. Tezę tę potwierdzają również niskie poziomy obydwu omawianych składników w wątrobie kurcząt, padłych w ciągu pierwszych dni życia wśród objawów anemii i zmian o charakterze degeneracji tłuszczowej wątroby (tab. I). Należy przy tym nadmienić, że kury nioski, od których brano jaja do wylęgu, były żywione jak najbardziej prawidłowo. Przez cały okres zimowy dostawały jako dodatki do paszy podstawowej surową marchew i kapustę, a w okresie składania jaj—kielkowane ziarno pszenicy. Podane zaburzenia u kurcząt, jak wykażą przedstawione niżej wyniki, nie komplikowały doświadczenia, a nawet były dla niego korzystne. Występujące w ciągu 1. dekady życia zmiany w krwi obwodowej przejawiały się obecnością krwinek oligo- i polichromatycznych. U nieznacznej ilości kurcząt w poszczególnych grupach polichromazja występowała w bardzo silnym stopniu; ilość krwinek polichromatycznych dominowała w obrazie; zwierzęta te wykazywały obniżoną żywotność i przeważnie padały w ciągu pierwszej dekady życia. U wszystkich padłych kurcząt stwierdzono makroskopowo i histologicznie procesy degeneracji tłuszczowej oraz zmiany martwicze w zrazikach wątroby. Ilość kurcząt padłych w poszczególnych grupach przedstawia tabela I.

Tabela I

Znak grupy (dieta)	Ilość kurcząt padłych	Ilość cz. c. w tys.	Ilość Hb wg Sahli	Nasilenie polichromazji	Procesy wsteczne	Zawartość w wątrobie w $\gamma/g$	
						kwas askorbinowy	kwas foliowy
1	1	1.030	25	b. duże	rozległe	132,0	5,5
2	0						
2a	2	2.700*	58	duże	rozległe	76,0	—
2b	0						
I	2	2.560*	68	nieznaczne	rozległe	69,0 i 78,0	—
II	1	—	—	nieznaczne	rozległe	50,8.	6,4
IIa	0						
IIb	1	—	—	—	rozległe	55,0	4,7

\* Dane tylko jednego z kurcząt; u kurcząt, które padły nagle, nie zdążono przeważnie przebadac krwi.

W drugiej i trzeciej dekadzie życia kurcząt polichromazja zaczęła ustępować i obraz krwi pod względem morfologicznym przybierał wygląd normalny. Ustępowanie jednak polichromazji w poszczególnych grupach tak pod względem swej intensywności, jak i w czasie było różne. Nasilenie polichromazji w poszczególnych grupach w ciągu okresu obserwacyjnego przedstawia tabela II.

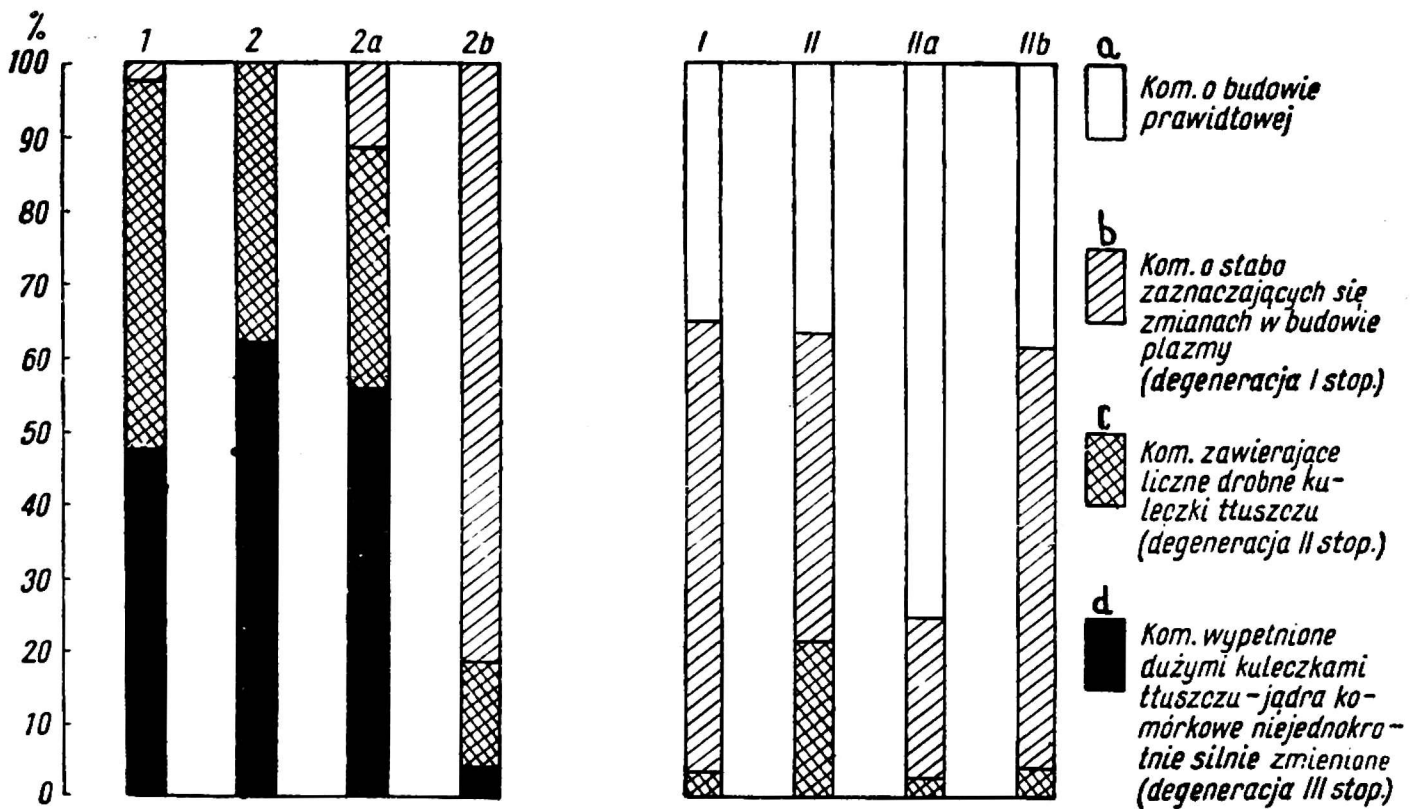
Z zestawienia wynika, że ustępowanie polichromazji wyraźniejsze jest w grupach żywionych pokarmem z dodatkiem antybiotyków; przy czym

Tabela II

Dzień życia	Grupa							
	1	2	2a	2b	I	II	IIa	IIb
10	20*	20	20	20	18	20	19	20
	20	20	20	20	18	20	20	20
16	16	18	11	13	10	16	11	20
	20	20	19	19	18	20	20	20
23	8	8	11	12	2	11	2	6
	15	15	14	14	13	15	15	15
30	3	6	4	4	2	0	0	2
	10	10	8	9	8	10	10	10

\* Cyfra w liczniku wyraża liczbę osobników w grupie z polichromazją, zaś w mianowniku ogólną liczbę osobników w grupie na danej diecie.

szczególnie na uwagę zasługuje grupa hodowana na diecie IIa, tj. na diecie uzupełnionej zestawem witamin bez kwasu askorbinowego. Natomiast w ilości krwinek oraz Hb wyraźnych różnic w poszczególnych grupach nie stwierdzono. Nasilenie procesów wstecznych (przeważnie w postaci degeneracji tłuszczowej) na poszczególnych dietach przedstawia ryc. 1.



Ryc. 1.

Fig. 1. a — cells of normal structure; b — cells with slightly visible changes in the structure of plasma (degeneration of the first degree); c — cells containing numerous granules of fat (degeneration of the second degree); d — cells filled with large granules of fat — the cellular nuclei frequently very changed (degeneration of the third degree).

Poziom kwasu askorbinowego i foliowego  
w wątrobie

Dane przedstawia tabela III. W wartościach kwasu askorbinowego dla poszczególnych grup daje się zauważyć różnice, które analiza statystycz-

Tabela III

Srednie wartości dla poziomu kwasów askorbinowego i foliowego w wątrobie  
*Average values for the level of ascorbic and folic acids in liver.*

Dzień życia	Grupa							
	1	2	2a	2b	I	II	IIa	IIb
16	167.50*	158.00	136.00	114.00	164.00	164.00	155.70	123.00
	14.70	10.00	14.70	10.90	14.30	17.60	21.00	14.80
23								
		14.32	9.48	11.70	24.30		12.48	
30	226.50	240.00	177.00	139.00	218.50	202.00	199.00	171.00
	14.15	15.70	13.52	12.92	18.20	11.10	16.70	11.60

\* Górny szereg wartości kw. askorbinowego, dolny kw. foliowego.

na wykazuje jako nieprzypadkowe. Mianowicie znamienność różnic dla poziomu kwasu askorbinowego występuje:

- między grupą 1 a 2a i 2b w 16. i 30. dniu życia,
- między grupą I a IIa i IIb w 16. i 30. dniu życia,
- między grupą 2a i IIa w 16. i 30. dniu życia,
- między grupą 2b i IIb w 16. i 30. dniu życia.

Co do wartości kwasu foliowego, aczkolwiek występują różnice na poszczególnych dietach, to oceniając jednak rozkład tych różnic, można przypuszczać, że są one raczej przypadkowe.

Tabela IV

Srednia waga kurcząt w g.  
*Average weight of chicks in grams.*

Dzień życia	Grupa							
	1	2	2a	2b	I	II	IIa	IIb
3	34.25	37.75	39.00	36.50	32.25	34.75	39.50	34.25
10	61.50	68.00	63.00	63.10	73.30	66.00	69.50	64.50
16	92.20	102.50	104.40	94.60	118.30	114.10	123.10	111.50
23	149.10	172.50	170.10	130.20	163.70	175.60	204.30	165.80
30	213.40	217.10	242.60	208.70	237.00	232.30	266.30	216.70

## OMÓWIENIE WYNIKÓW

1. Przede wszystkim należy nadmienić, że przebieg anemii przy dietach bez dodatku antybiotyków potwierdza zauważone przez nas uprzednio niekorzystne działanie diety o niezrównoważonej pod względem ilościowym zawartości witamin rozpuszczalnych w wodzie. Mianowicie, ustępowanie anemii u kurcząt na diecie podstawowej nie uzupełnianej żadnymi witaminami rozpuszczalnymi w wodzie jest szybsze niż na tejże diecie uzupełnionej zestawem witamin rozpuszczalnych w wodzie, nie zawierającym kwasów foliowego lub askorbinowego lub też obydwu tych kwasów równocześnie. Zjawisko to uwidacznia się również w poziomie kwasu askorbinowego; poziom bowiem kwasu askorbinowego w wątrobie u kurcząt na diecie 1 jest wyższy aniżeli na dietach 2a i 2b.

2. Wyższy poziom kwasu askorbinowego w wątrobie u kurcząt na dietach z antybiotykami (IIa i IIb) niż na analogicznych bez antybiotyków (2a i 2b) pozwala przypuszczać, że antybiotyki stymulują syntezę tego ciała. Również szybsze ustępowanie anemii oraz wyraźnie mniejsze nasilenie procesów wstecznych w wątrobie na dietach z dodatkiem antybiotyków, a szczególnie na diecie IIa (uzupełnionej zestawem witamin bez kwasu askorbinowego) jest biologicznym wyrazem tej stymulacji. Ponadto, jeśli zważymy, że reakcji biologicznej kurcząt na diecie IIa w porównaniu do diety 2a towarzyszy statystycznie potwierdzone podwyższenie się kwasu askorbinowego przy przypadkowej różnicy dla kwasu foliowego, to możemy wnioskować, że w funkcji przeciwdziałania anemii przy diecie IIa główna rola przypadła kwasowi askorbinowemu. Z powyższego wynika wniosek dalszy, że kwas askorbinowy miałby zdolność aktywowania funkcji kwasu foliowego.

3. Доманьски, Д. Добровольска, Э. Залевска

## ВЛИЯНИЕ АНТИБИОТИКОВ НА ОБМЕН АСКОРБИНОВОЙ И ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТ У ЦЫПЛЯТ

## Содержание

Из предыдущей работы автор следует, что диеты с неуравновешенным содержанием фолиевой или аскорбиновой кислот по отношению к другим витаминам, растворимым в воде, вызывают анемию, а также репрессивные изменения в печени, причем отчетливо констатирована взаимозависимость функций аскорбиновой и фолиевой кислот.

В настоящей работе исследовано влияние антибиотиков на обмен вышеуказанных витаминов. С этой целью цыплят кормили, сохраняя основную диету, не содержащую аскорбиновой кислоты и бедную в фолиевую кислоту, дополненную составом витаминов.

Из состава витаминов исключали порознь фолиевую или аскорбиновую кислоту или обе кислоты одновременно. Одну часть таким образом составленных однородных диет дополнили антибиотиками.

Диеты, дополненные антибиотиками, более отчетливо противодействовали появлению анемии, а также репрессивным процессам в печени, чем соответственные диеты без антибиотиков. Также уровень аскорбиновой кислоты в печени был выше у цыплят, содержащихся на диетах с антибиотиками. Такого рода различия являются наиболее отчетливыми при диете, не содержащей аскорбиновой кислоты.

На основании этих результатов, авторы приходят к выводу, что антибиотики стимулируют синтез аскорбиновой кислоты.

Кроме того, более отчетливая регрессия анемии и ослабление интенсивности репрессивных процессов в печени при одновременном статистически существенном

увеличении количества аскорбиновой кислоты в печени, а статистически несущественном увеличении количества фолиевой кислоты — свидетельствовало бы о активировании функций этой последней аскорбиновой кислотой.

E. Domański, D. Dobrowolska, E. Zalewska

## THE EFFECT OF ANTIBIOTICS ON ASCORBIC AND FOLIC ACID METABOLISM IN CHICKS

### Summary

It has been shown in the author's previous work that the chicks kept on the diet containing imbalanced quantities of ascorbic and folic acid in proportion to other water-soluble vitamins were developing anaemia and regressive changes in the liver. The real interdependence of folic and ascorbic acid function has also been definitely stated.

In the present work the effect of antibiotics on metabolism of these two vitamins has been investigated.

Investigations were conducted on chicks kept on diets of varying composition. The feedings consisted of basal diet (cereals, devitaminized casein, vitamin B<sub>12</sub> and fat-soluble vitamins) supplemented by sets of water-soluble vitamins. There were three sets of vitamins supplementing the basal diet, viz, composition of water-soluble vitamins, lacking both ascorbic and folic acid, or lacking only one of these two vitamins. Moreover, some diets were supplemented by streptomycin and aureomycin and the others (of the same composition) were not supplemented by antibiotics.

As compared with the unsupplemented diets, the diets supplemented by antibiotics prevented more evidently the symptoms of anaemia and regressive processes in the liver. Also the ascorbic acid levels in the liver of chicks, when kept on the diets supplemented with antibiotics, were higher than in those fed on unsupplemented diets. These differences, and that in the most prominent form, were stated on the diets lacking supplementation by ascorbic acid. The difference in folic acid levels in liver kept on diets supplemented and unsupplemented by antibiotics seemed to have been accidental.

On the basis of presented results the authors conclude that antibiotics — streptomycin and aureomycin — when simultaneously added to the diet, stimulate the synthesis of ascorbic acid.

Furthermore, if one considers that the regression in anaemia is not being accompanied by some rise of folic but only of ascorbic acid level, it seems to be certain that in the given experiment the ascorbic acid had the ability to activate the function of folic acid.

### PIŚMIENNICTWO

1. Domański E., Dobrowolska D., Zalewska E.: *Acta Phys. Pol.*, 1957, 1. 139. —
2. *Methods of Microchemical Analysis*, ed. by David Glich, Vol. I. Interscience Publishers, New York-London. —
3. Schwartz M. A. and Williams J. N. Jr.: *J. Biol. Chem.*, 1952, 194, 711—714. —
4. Schwartz M. A. and Williams J. N. Jr.: *J. Biol. Chem.*, 1952, 197, 481—484. —
5. Schwartz M. A. and Williams J. N. Jr.: *J. Biol. Chem.*, 1952, 198, 271—279. —
6. *Vitamins Methods*, ed. by Paul Gyorgy, 1950, Academic Press Inc. Publishers, New York. —
7. Welch A. D. and Nichol C. A.: *Annual Review Biochem.*, 1952, 21, 633—686. —
8. Williams J. N. Jr.: *Proc. Exptl. Biol. Med.*, 1951, 77, 315—317.

Otrzymano dnia: 12.XII.57 r.