

KRYSTYNA JAKUBÓW, BARBARA ZALEWSKA, JOLANTA GROMADZKA

Sezonowe zmiany poziomu frakcji glikoproteidowych osocza krwi klaczy kuca szetlandzkiego

Laboratorium Fizjologiczne przy Miejskim Ogrodzie Zoologicznym w Warszawie,
03-461 Warszawa, ul. Ratuszowa 1/3

Jak wynika z licznych prac poziom glikoproteidów osocza zależy od wielu czynników: gatunku zwierzęcia (3), płci (2), wieku (12), ciąży (10, 12, 14), laktacji (10, 12). Stężenie glikoproteidów osocza podlega również wahaniom sezonowym (1, 2).

Sezonowe zmiany stężenia glikoproteidów osocza u klaczy są prawdopodobnie wypadkową adaptacji metabolicznych związanych ze zmianą pór roku i sezonowej aktywności rozrodczej klaczy, u których długość dnia świetlnego inicjuje okresowy wzrost aktywności gonad. W związku z glikoproteidowym charakterem gonadotropin za sezonowe zmiany stężenia glikoproteidów osocza krwi duży wpływ ma prawdopodobnie sezon rozrodczy klaczy.

Celem prezentowanej pracy było zbadanie ewentualnych sezonowych zmian zachodzących w poziomie frakcji glikoproteidowych osocza krwi klaczy kuca szetlandzkiego.

Materiał i metody

Badania prowadzono w Warszawskim Ogrodzie Zoologicznym w okresie od sierpnia 1977 do grudnia 1978 r. na 7 dorosłych klaczach kuca szetlandzkiego, żywionych tradycyjnymi dla koni paszami.

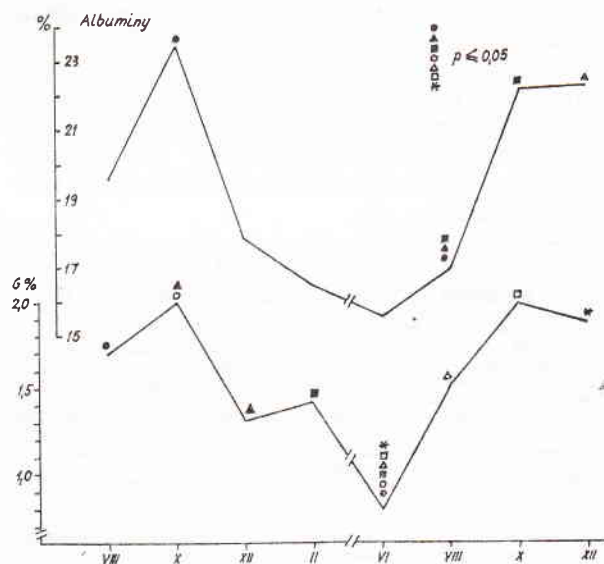
Krew pobierano w godzinach rannych (8 — 9), co dwa miesiące, z żyły jarzmowej do heparynizowanych probówek. Oddzielone osocze przechowywano w temperaturze -20°C do momentu wykonania oznaczeń. Rozdział elektroforetyczny frakcji glikoproteidowych osocza przeprowadzono w warunkach podanych przez Dżułyńską i wsp. (4). Krzywe densytometryczne uzyskiwano przy użyciu aparatu firmy Zeiss Jena typu ERJ-550, z których odczytywano procentową zawartość poszczególnych frakcji, którą przeliczano na wartości bezwzględne (g%) w stosunku do białka całkowitego osocza krwi oznaczanego metodą Lowry'ego (8).

Z uzyskanych wyników dla poszczególnych frakcji glikoproteidowych wyliczono wartości średnie i błąd

średniej arytmetycznej ($\bar{x} \pm m$). Istotność zmian między poszczególnymi miesiącami roku, w których wykonywano badania, przeprowadzono testem t-Studenta.

Wyniki i omówienie

Otrzymane wyniki, zamieszczone w tab. 1 i na ryc. 1 — 6, wskazują, że poziom frakcji glikoproteidowych na przestrzeni 17 miesięcy badań ulegał równoległym zmianom w wartościach względnych i bezwzględnych, przy czym największe zmiany zachodziły we frakcji albuminowej, α_2 -, β_1 - i β_2 -glikoproteidowej.



Ryc. 1. Sezonowe zmiany w poziomie glikoproteidów frakcji albuminowej w osoczu krwi klaczy kuca szetlandzkiego. Wartości względne (%) i bezwzględne (g%)

Tab. 1. Stężenie frakcji glikoproteidowych (g%) w osoczu krwi klaczy kuca szetlandzkiego ($\bar{x} \pm m$)

Fracje	Miesiące							
	VIII	X	XII	II	VI	VIII	X	XII
Albuminy	1,70 \pm 0,24	2,03 \pm 0,25 *	1,28 \pm 0,20 *	1,43 \pm 0,28	0,80 \pm 0,21 *	1,52 \pm 0,17 *	2,00 \pm 0,21 *	1,88 \pm 0,21 *
α_1 -glob.	1,01 \pm 0,31	1,14 \pm 0,33	0,59 \pm 0,12	0,64 \pm 0,04	0,77 \pm 0,20	0,92 \pm 0,13	0,72 \pm 0,16	0,82 \pm 0,14
α_2 -glob.	2,18 \pm 0,37 *	2,14 \pm 0,64 *	1,04 \pm 0,39	0,52 \pm 0,07 **	1,47 \pm 0,32 *	2,15 \pm 0,49 *	1,72 \pm 0,12 **	1,05 \pm 0,41
β_1 -glob.	1,54 \pm 0,32 **	1,68 \pm 0,45 *	1,75 \pm 0,45 *	3,28 \pm 0,38 **	1,42 \pm 0,69 *	2,44 \pm 0,39 *	1,37 \pm 0,16 *	2,07 \pm 0,34 *
β_2 -glob.	1,51 \pm 0,24 *	1,22 \pm 0,24 *	1,24 \pm 0,50 *	2,19 \pm 0,17 *	0,90 \pm 0,15 *	1,41 \pm 0,37	1,34 \pm 0,26 *	1,88 \pm 0,56
γ -glob.	0,62 \pm 0,07	0,56 \pm 0,01	0,51 \pm 0,12	0,56 \pm 0,13	0,60 \pm 0,28	0,49 \pm 0,07	1,06 \pm 0,36	0,66 \pm 0,13

Objaśnienia: \bar{x} — średnia arytmetyczna, m — błąd średniej arytmetycznej, * — istotne przy $p \leq 0,05$, ** — istotne przy $p \leq 0,001$.

Okres od października do czerwca charakteryzował się stopniowym obniżaniem poziomu glikoproteidów frakcji albuminowej z 2,03 do 0,8% w wartościach bezwzględnych i z 23,5 do 15,6% w wartościach względnych (ryc. 1). Natomiast w sierpniu i w październiku zaobserwowano istotny wzrost stężenia glikoproteidów tej frakcji w stosunku do czerwca: w sierpniu z 0,8 do 1,52% oraz z 15,6 do 17,0%. Tak więc w obydwu badanych latach maksymalne stężenia albumin w osoczu krwi wystąpiły w październiku, zaś minimalne — w czerwcu.

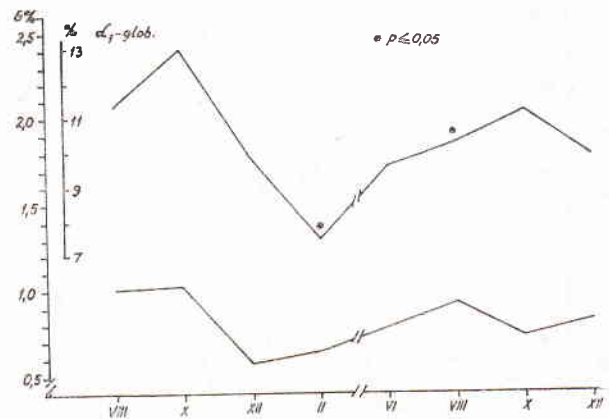
Podobnie dużym, istotnym zmianom zarówno w wartościach względnych, jak i bezwzględnych, ulegała frakcja α_2 -glikoproteidowa.

Od sierpnia do lutego obserwowano stałe obniżanie się poziomu tej frakcji z 25,4 do 6,0% oraz z 2,18 do 0,52 g%. Ponowny wzrost do wartości maksymalnych, zanotowanych w ciągu badań, (do 2,15 g% oraz 23,8%) wystąpił w sierpniu drugiego roku (ryc. 3). Tak więc maksymalne stężenie frakcji α_2 -glikoproteidowej w obydwu badanych latach wystąpiły w sierpniu i październiku, a minimalne — w lutym. Zmiany stężenia frakcji α_1 -glikoproteidowej nie były istotne z wyjątkiem sierpnia drugiego roku badań, kiedy to wystąpił względny wzrost stężenia frakcji α_1 -glikoproteidowej w stosunku do wartości stwierdzonych w lutym (ryc. 2) z 7,5 do 10,0%. Jednak ogólny wzór zachowania się tych trzech frakcji (albuminowej, α_1 - i α_2 -glikoproteidowej) był bardzo podobny. Natomiast zmiany frakcji β_1 - i β_2 -glikoproteidowej mają odmienny przebieg w stosunku do trzech omawianych poprzednio frakcji z zachowaną jednak sezonową powtarzalnością zmian.

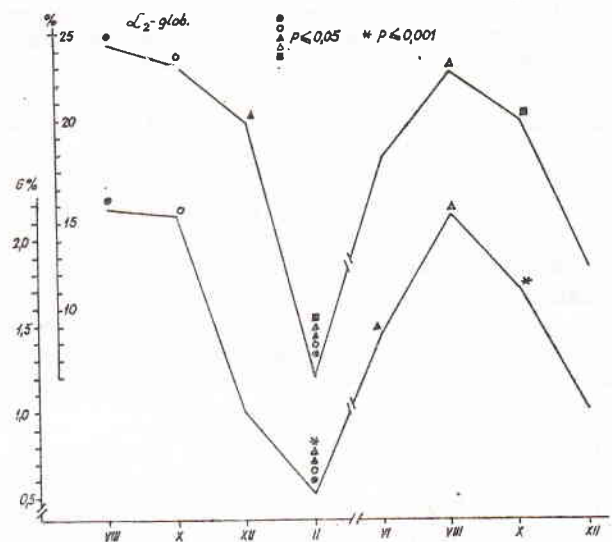
W ciągu całego okresu badań charakter zmian poziomów dwóch frakcji: β_1 - i β_2 -glikoproteidowej, zarówno w wartościach względnych, jak i bezwzględnych był zbliżony (ryc. 4 i 5). Maksymalne stężenia glikoproteidów obydwu frakcji wystąpiły w lutym i wynosiły: dla frakcji β_1 -glikoproteidowej 3,28 g% i 38,2%, dla frakcji β_2 -glikoproteidowej — 2,19 g% i 25,3%. Wzrost stężenia frakcji β_1 - i β_2 -glikoproteidowej w lutym w stosunku do poziomu tych frakcji w pozostałych wszystkich miesiącach badanego okresu był, w większości przypadków, istotny statystycznie.

Zmiany zarówno względnych, jak i bezwzględnych stężeń frakcji γ -glikoproteidowych nie wykazywały istotnych statystycznie różnic w ciągu całego okresu badań. (ryc. 6). Frakcja γ -glikoproteidowa przez cały badany okres wykazywała tylko nieznaczne wahania. Jedyne wzrost stężenia, nieistotny statystycznie, wystąpił w październiku drugiego roku badań.

Obserwując charakter zmian frakcji α -glikoproteidowych w ciągu roku można wyróżnić dwa okresy: pierwszy od lutego do sierpnia,

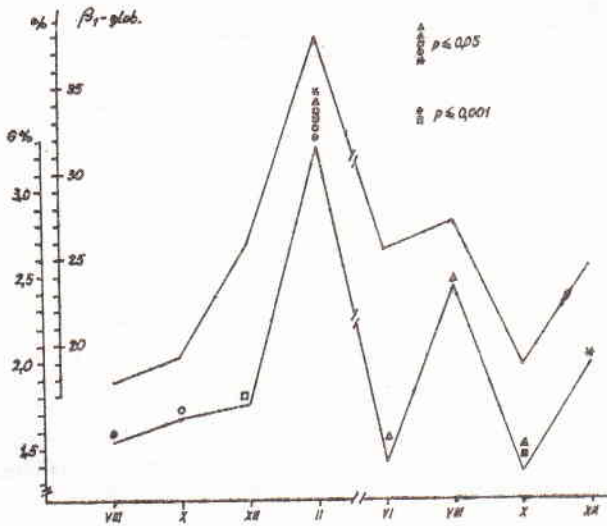


Ryc. 2. Sezonowe zmiany w poziomie glikoproteidów frakcji α_1 w osoczu krwi kłaczy kuca szetlandzkiego. Wartości względne (%) i bezwzględne (g%)

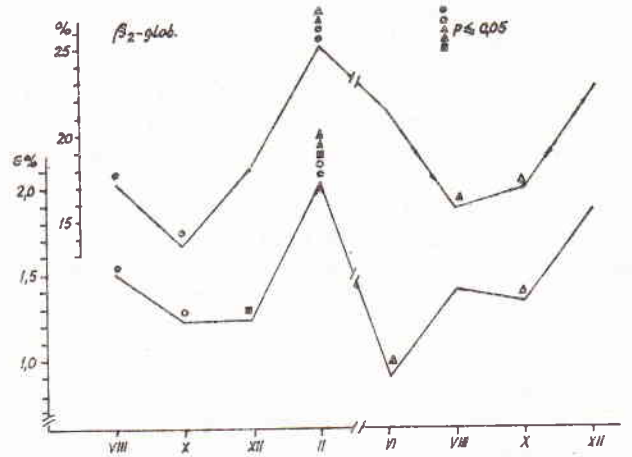


Ryc. 3. Sezonowe zmiany w poziomie glikoproteidów frakcji α_2 w osoczu krwi kłaczy kuca szetlandzkiego. Wartości względne (%) i bezwzględne (g%)

nia, charakteryzujący się stopniowym wzrostem stężenia tych frakcji od wartości minimalnych do maksymalnych; drugi — od sierpnia do lutego, w którym występuje spadek stężenia tych frakcji glikoproteidowych. Zmiany te mogą być wynikiem zmniejszonej syntezy α -glikoproteidów w okresie jesienno-zimowym; natomiast wysokie stężenia tych frakcji w czerwcu i sierpniu świadczą o wzmożonej syntezie białek frakcji α_1 - i α_2 -glikoproteidowej latem. Ponadto wzrost stężenia frakcji α_2 -glikoproteidowej w czerwcu i sierpniu należy wiązać z sezonem rozrodczym kłaczy, u których nasilenie procesów rozrodczych przypada na okres długiego dnia świetlnego (miesiące letnie). Wzrost stężenia frakcji α_2 -glikoproteidowej w czerwcu i sierpniu może więc być spowodowany wzrostem stężenia hormonów gonadotropowych, które są glikoproteidami i podczas rozdzielania elektroforetycznego wędrują we frakcji α_2 -glikoproteidowej. Wzrost



Ryc. 4. Sezonowe zmiany w poziomie glikoproteidów frakcji β_1 w osoczu krwi kłaczy kuca szetlandzkiego. Wartości względne (%) i bezwzględne (g%)



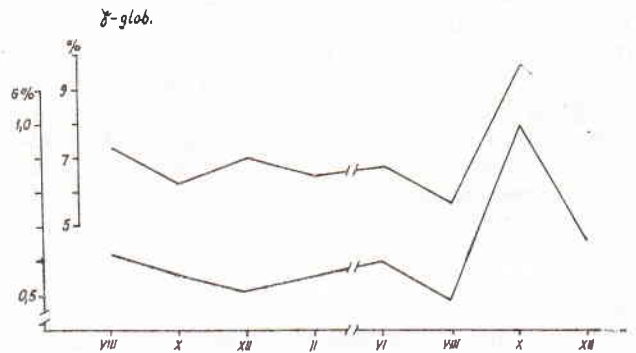
Ryc. 5. Sezonowe zmiany w poziomie glikoproteidów frakcji β_2 w osoczu krwi kłaczy kuca szetlandzkiego. Wartości względne (%) i bezwzględne (g%)

stężenia frakcji α_2 -glikoproteidowej spowodowany wzrostem stężenia hormonów gonadotropowych obserwowano m.in. u kłaczy w różnych okresach ciąży (14). U kłaczy wydłużanie dnia świetlnego wywołuje zwiększoną aktywność sekrecyjną przysadki mózgowej. Maksymalne stężenia FSH i LH u tych zwierząt występują w maju i czerwcu (5), a wydłużanie się fotoperiodu pod koniec zimy powoduje występowanie cykli estralnych u kłaczy (9).

Na zwiększony poziom frakcji α_2 -glikoproteidowej w okresie czerwiec-sierpień, obok gonadotropin, wpływa prawdopodobnie także poziom estrogenów, który powoduje zwiększoną syntezę alfa-fetoglobuliny — glikoproteidu frakcji α_2 -glikoproteidowej (11).

Zmiany poziomów pozostałych frakcji glikoproteidowych w ciągu roku są wynikiem różnego stopnia natężenia metabolizmu w różnych porach roku. Podobnie zmiany stężenia białka całkowitego i jego frakcji elektroforetycznych (6) i frakcji lipoproteidowych i lipidów całkowitych (7) były następstwem sezonowych adaptacji metabolicznych i zmieniających się stosunków hormonalnych u tych samych kłaczy.

Latem wzrasta stężenie β -lipoproteidów, spada natomiast poziom albumin oraz obniża się stosunek albumin do globulin, a w zimie — występują zmiany odwrotne. Podobny charakter sezonowych zmian w poziomie frakcji białkowych i glikoproteidowych stwierdzono u norników polnych, u których wzrost tempa metabolizmu i maksymalna aktywność tarczycy latem powodują spadek stężenia albumin białkowych i glikoproteidowych, natomiast wzrost stężenia białka całkowitego oraz albumin białkowych i glikoproteidowych na jesieni jest wynikiem wzrostu rezerwy białkowej organiz-



Ryc. 6. Sezonowe zmiany w poziomie glikoproteidów frakcji γ w osoczu krwi kłaczy kuca szetlandzkiego. Wartości względne (%) i bezwzględne (g%)

mu zwierząt przygotowujących się do zimy (1, 2). Prawdopodobnie zbliżony jest mechanizm zmian sezonowych w poziomach frakcji białkowych, lipoproteidowych i glikoproteidowych u kłaczy kuców szetlandzkich.

Piśmiennictwo

1. Dobrowolska A., Rewkiewicz-Dziarska A., Szarska I., Gill J.: J. interdiscipl. Cycle Res. 5, 347, 1974.
2. Dobrowolska A.: Acta theriol. 20, 435, 1976.
3. Dżułyńska J., Krajewska K., Gill J.: Acta bioch. pol. 11, 121, 1964.
4. Dżułyńska J., Krajewska K.: Bull. Acad. Pol. Sci. Biol. 13, 61, 1965.
5. Freedman L. J., Garcia M. C., Ginther O. J.: Biol. Reprod. 20, 567, 1979.
6. Jakubów K., Zalewska B., Gromadzka J.: Medycyna Wet. 8, 490, 1963.
7. Jakubów K., Zalewska B., Gromadzka J.: Medycyna Wet. (w druku).
8. Lowry O. H., Rosenbrought N. J., Farr A. L., Randall P. O.: J. biol. Chem. 193, 265, 1951.
9. Ozender W. D., Noden P. A., Hafs H. D.: Am. J. vet. Res. 38, 203, 1977.
10. Prusiewicz-Witaszek U., Działoszyński L.: Medycyna Wet. 10, 627, 1967.
11. Scholtz B.: Studies on PZ the pregnancy zone protein. Umea Univ. Med., 1974.
12. Walkowiak H., Skubiszewski B.: Bull. Acad. Pol. Sci. Biol. 18, 533, 1970.
13. Walkowiak H., Brylińska J., Krawczyńska M., Starzyński W.: Pol. Arch. wet. 15, 385, 1972.
14. Wójcik K., Ewy Z.: Bull. Acad. Pol. Sci. Biol. 13, 484, 1967.

Adres autora: mgr Krystyna Jakubów, ul. Zacisze 38, 05-870 Błonie

Якубов К., Залевская В., Громадская И. — **Сезонные изменения уровня гликопротеидных фракций кровяной плазмы кобыл шетландского пони**

Jakubów K., Zalewska B., Gromadzka J. — **Seasonal changes in the level of plasmatic glycoproteids in Shetland pony mares**

Исследовали сезонную изменчивость гликопротеидных фракций кровяной плазмы кобыл шетландского пони. Исследования вели 17 месяцев. Наибольшие сезонные колебания появились в альбуминовой, α_2 -гликопротеидной и β -гликопротеидных фракциях. Отмечено параллельность изменений относительной и абсолютной концентраций всех фракций. Концентрации альбуминовой фракции растут в октябре, понижается летом; концентрация α_1 - и α_2 -гликопротеидных фракций растет в августе, понижается в феврале; концентрация гликопротеидов обеих β -фракций растет в феврале.

Изменения концентрации γ -гликопротеидных фракций не показывали существенных различий на протяжении всего исследуемого периода.

Seasonal changes in the concentration of glycoproteids fractions were examined in the blood — plasma of Shetland pony mares. The studies were being conducted for 17 months. The most significant seasonal fluctuations were observed in the concentration of albumin, alpha 2-glycoprotein and beta-glycoprotein fractions. It was found a parallelism of changes in the level of all the fractions. The concentration of albumin increased in October and dropped in summer; the level of alpha 1 and alpha 2 glycoproteids grew up in August and decreased in February; beta fractions of glycoproteids augmented in February. The concentration of gamma glycoprotein fraction did not show any significant changes in the course of examinations.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

JANUSZ WIERCIŃSKI

Sporządzanie i dozowanie sypkiego katalizatora do spalań prób przy oznaczeniach białka w aparacie Kjeld-Foss

Centralne Laboratorium Aparaturowe AR, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin

Katalizator do spalań prób w oznaczeniach białka przy pomocy analizatora Kjeld-Foss Macro Automatic (prod. Foss Electric — Dania) jest mieszaniną dwu związków: czerwonego tlenku rtęciowego i siarczanu potasowego. Pierwszy z nich jest silną trucizną i stosowanie go wymaga specjalnego zabiegu, polegającego na sprasowaniu w tabletki w mieszaninie z drugim składnikiem. W takiej postaci był dotychczas łatwo i bezpiecznie dozowany. Jedna tabletkę zawiera 0,25 g HgO i 5,0 g K_2SO_4 . Katalizator taki nie jest jednak dostępny na rynku krajowym. W roku bieżącym zapasy tabletkowanego katalizatora w naszym Laboratorium, importowanego dotąd z krajów Europy Zachodniej, wyczerpały się i zmuszeni byliśmy zastąpić je mieszaniną sypką, sporządzoną ze stosunkowo łatwo dostępnych składników: HgO cz. (REACHIM-ZSRR, POCH-Gliwice) i K_2SO_4 cz. (POCH). W tym celu należało pokonać dwie zasadnicze trudności:

- uzyskać jednorodną mieszaninę HgO: K_2SO_4 (1:20),
- zaprojektować i wykonać dozownik do dokładnego jej odmierzenia oraz bezpiecznego wprowadzania do kolb aparatu.

Z obiema trudnościami uporaliśmy się w dosyć prosty sposób. Uważamy za celowe podzielić się tym osiągnięciem z innymi krajowymi użytkownikami aparatów Kjeld-Foss, którzy znaleźli się lub znajdą w najbliższej przyszłości w obliczu braku tabletkowanego katalizatora.

Uzyskiwanie jednorodnej mieszaniny. Tlenek rtęciowy czysty i siarczan potasowy czysty (drobnokrystaliczny K_2SO_4 cz.d.a. nie nadaje się do tego sposobu dozowania) różnią się wielkością kryształów oraz gęstością. Pierwszy z nich — produkowany w postaci drobnokrystalicznej — jest znacznie gęstszy w porównaniu z siarczanem potasowym cz., otrzymywanym w formie stosunkowo grubych kryształów. Z uwagi na te różnice nie można uzyskać jednorodnej mieszaniny przez zwykłe wytrząśnięcie obu składników. Tlenek rtęciowy stale opada bliżej dna naczynia zarówno podczas mieszania, jak również dozowania i stwarza niebezpieczeństwo wprowadzania miesza-

ny o złym stosunku składników, a także rozpylania oraz rozpraszania HgO na częściach aparatu, odzieży, obuwiu itd.

Po wielu próbach opracowano w naszym Laboratorium taką metodę przygotowywania składników katalizatora, która doprowadza do zlepiania się (okluzji) drobnych i cięższych cząstek HgO na kryształach K_2SO_4 . Pozwala ona na otrzymanie jednorodnej mieszaniny katalizatora w stanie sypkim oraz na wystarczająco trwale związane HgO (na czas przygotowania i dozowania) z kryształami siarczanu potasu. Metoda polega na niżej opisanych czynnościach. Do szczelnie zamykanego słoja („Twist-off”) o poj. 3 dm³ wprowadza się 3000 g kryształicznego K_2SO_4 cz. (ewentualne zbrzylenia rozciera się w moździerzu). Po dodaniu 100 cm³ 70% (v/v) metanolu szybko zamyka się naczynie i zawartość wytrząsa ręcznie do równomiernego rozprowadzenia rozpuszczalnika. Teraz wprowadza się 150 g drobnokrystalicznego, czerwonego tlenku rtęciowego i powtórnie miesza składniki do otrzymania ich jednorodnej mieszaniny. Zawartość naczynia wysypuje się na bibułę i suszy na powietrzu. Alkohol i woda odparowują, a tlenek rtęciowy przywiera trwale do ścian kryształów K_2SO_4 , dzięki rozpuszczeniu się pewnej ilości i następnej rekrytalizacji siarczanu. Wysuszony katalizator przenosi się do suchego naczynia. Jeżeli ulegnie on gdzieś zbrzyleniu, łatwo przeprowadza się te części w formę sypką przez lekkie ich dociśnięcie trzonkiem moździerza. Tak przygotowany katalizator może być dozowany względnie bezpiecznie i z zachowaniem stałego stosunku składników.

Dozownik. Do jednego oznaczenia białka w aparacie Kjeld-Foss używa się 3 tabletek (Kjeld-Foss tabs), zawierających w sumie 0,75 g HgO i 15 g K_2SO_4 . Tabletki te przenosi się na dno kolby Kjeldahla przy pomocy odpowiedniego chwytaka, stanowiącego standardowe wyposażenie aparatu. Ta sama ilość tlenku rtęciowego i siarczanu potasowego w postaci sypkiej zajmuje objętość ok. 9 cm³. Powinna być ona wprowadzona przy pomocy odpowiednio długiego dozownika, zapewniającego łatwe odmierzenie sypkiego ka-